



Synthese, Löslichkeit und biologische Aktivität von Silber-Nanopartikeln

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften

-Dr. rer. nat.-

vorgelegt von

Stefanie Kittler

geboren in Mülheim an der Ruhr

Institut für Anorganische Chemie
der
Universität Duisburg-Essen

2009

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum vom April 2006 bis September 2009 im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. Matthias Epple im Institut für Anorganische Chemie der Universität Duisburg-Essen durchgeführt.

Gutachter: Prof. Dr. Matthias Epple

Prof. Dr. Christian Mayer

Vorsitzender: Prof. Dr. Carsten Schmuck

Tag der Disputation: 17.12.2009

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Theoretische Grundlagen	3
2.1 Grundlagen der Kolloidchemie.....	3
2.1.1 Definition kolloidaler Systeme.....	3
2.1.2 Alterung und Stabilität kolloidaler Systeme	5
2.1 Metallnanokristalle.....	13
2.2 Silber-Nanopartikel.....	17
2.3 Silber und seine biologische Wirkung	19
2.4 Verwendete Untersuchungsmethoden.....	23
2.4.1 Dynamische Lichtstreuung (DLS) und Zetapotential	23
2.4.2 Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	25
2.4.3 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) und EELS	26
2.4.4 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS).....	27
2.4.5 Elementaranalyse.....	28
2.4.6 UV/VIS-Spektroskopie.....	29
2.4.7 Dialyse	29
3. Experimenteller Teil.....	31
3.1 Synthese von Silber-Nanopartikeln	31
3.1.1 Der Polyol-Prozess	31
3.1.2 Standard-Citrat-Methode	34
3.1.3 Reduktion mit Glukose.....	35
3.2 Löslichkeitsuntersuchungen	36
3.3 Agglomerationsverhalten.....	37

Inhaltsverzeichnis

3.4 Biologische Aktivität	38
4. Ergebnisse und Diskussion	40
4.1 Charakterisierung der Silber-Nanopartikel	40
4.1.1 Charakterisierung der mit Polyvinylpyrrolidon stabilisierten Silber-Nanopartikel nach dem Polyol-Prozess.....	40
4.1.2 Charakterisierung der mit Citrat stabilisierten Silber-Nanopartikel	51
4.1.3 Charakterisierung der durch Reduktion mit Glukose synthetisierten Polyvinylpyrrolidon-stabilisierten Silber-Nanopartikel.....	56
4.1.4 Zusammenfassung der Charakterisierung der verschiedenen Silber-Nanopartikel	60
4.2 Löslichkeitsuntersuchungen an Silber-Nanopartikeln	64
4.2.1 Diffusion von Silberionen durch Dialysemembranen.....	64
4.2.2 Löslichkeit von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln.....	76
4.2.3 Löslichkeit von Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikeln	97
4.2.4 Kinetik der Löslichkeitsuntersuchungen	103
4.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse der Löslichkeitsuntersuchungen ..	109
4.3 Dispersionsverhalten von Silber-Nanopartikeln in verschiedenen biologischen Medien	114
4.3.1 Dispersion von Silber-Nanopartikeln in Wasser und PBS.....	114
4.3.2 Dispersionsverhalten von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln in RPMI.....	119
4.3.3 Dispersionsverhalten von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln in RPMI + 10 % FCS.....	122
4.3.4 Dispersionsverhalten von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln in RPMI + 10 % BSA	128

Inhaltsverzeichnis

4.3.5 Zusammenfassung des Dispersionsverhaltens von Silber-Nanopartikeln in biologischen Medien	132
4.4 Biologische Aktivität von Silber-Nanopartikeln	135
4.4.1 Zellviabilität.....	135
4.4.2 Proliferation	140
4.4.3 Interleukin-Freisetzung.....	142
4.4.4 Zusammenfassung der biologischen Aktivität	146
5. Zusammenfassung	151
6. Literatur	153
7. Anhang.....	164
7.1 Abkürzungsverzeichnis.....	164
7.2 Gefahrstoffe und Entsorgung.....	165
7.3 Publikationsliste.....	166
7.4 Lebenslauf	169
Eidesstattliche Erklärung	170
Danksagung.....	171

1. Einleitung

Die Nanotechnologie beschäftigt sich mit der Forschung und Herstellung von Strukturen im Nanometerbereich. Ein Nanometer entspricht einem Milliardenstel Meter. Unter den Begriff Nanopartikel fallen Teilchen, die in mindestens einer Dimension kleiner als 100 nm sind. Diese Teilchen sind etwa 1000mal kleiner als der Durchmesser eines Menschenhaars. Nanopartikel haben wegen ihrer geringen Größe andere physikalische Eigenschaften als große Partikel des gleichen Materials. Die Oberflächeneigenschaften sind in den Nanopartikeln gegenüber den Volumeneigenschaften der Materialien von größerer Bedeutung. Auch quantenphysikalische Effekte spielen eine immer größere Rolle. Dadurch steigt das Interesse an der Nanotechnologie immer weiter an. Viele Nanomaterialien sind heutzutage kommerziell verfügbar und werden in handelsüblichen Produkten eingesetzt. Beispielsweise wird nanoskaliges Titandioxid als UV-Schutzfilter in Sonnencremes verwendet, oder Nanobeschichtungen nutzen den Lotuseffekt für selbstreinigende Oberflächen.

Aufgrund der bakteriziden Wirkung von Silberionen nimmt die Beschichtung von Gebrauchsgegenständen mit Silber-Nanopartikeln immer weiter zu. Antimikrobiell wirkende Silber-Nanopartikel werden in einigen Bekleidungstextilien wie Sportsocken und Schuheinlagen verwendet. In Socken eingearbeitete Silberfäden töten unter anderem die Bakterien, welche die stechenden Gerüche bei Schweißfüßen entwickeln. Auch mit Silber-Nanopartikeln beschichtete Kühlschränke, Wasserhähne oder Waschmaschinen sind immer häufiger zu finden. Dadurch sollen die Verbraucher vor Keimen und Bakterien geschützt werden. Gelangt das Silber mit Wasser in Kontakt, löst es sich jedoch langsam auf. Dadurch geht zum einen die antibakterielle Wirkung verloren, und zum anderen gelangen die Nanoteilchen in die Umwelt. Über die Haut, die Atemwege und den Magen-Darm-Trakt können die Nanopartikel dann auch in den menschlichen Körper gelangen, wo sie unter Umständen toxische

Einleitung

Wirkungen entfalten. Was die Nanopartikel wirklich im Körper machen, ist bis jetzt kaum erforscht. Im Rahmen dieser Arbeit werden die Wirkungen von Silber-Nanopartikeln auf menschliche Zellen untersucht. Um erste Hinweise darauf zu bekommen, wodurch die Toxizität von Silber tatsächlich hervorgerufen wird, wird zunächst die Löslichkeit der Silber-Nanopartikel in wässrigen Medien untersucht. Auch das Agglomerationsverhalten der Partikel in verschiedenen Zellkulturmedien spielt eine wichtige Rolle für das Verständnis der biologischen Aktivität der Silber-Nanopartikel. Anhand dieser Ergebnisse können dann am Ende erste Aussagen darüber gemacht werden, wie sich menschliche Zellen gegenüber den Silber-Nanopartikeln verhalten und wie gefährlich diese Nanopartikel wirklich sind.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Grundlagen der Kolloidchemie

2.1.1 Definition kolloidaler Systeme

Der Begriff „Kolloid“ wurde erstmals von dem Wissenschaftler Thomas Graham (1808-1869) eingeführt. Er benutzte diesen Begriff für Makromoleküle in Lösungen, die nicht durch eine Membran permeieren können. Sprachlich stammt der Begriff von dem griechischen Wort „kolloi“, welches „leimen“ bedeutet, ab. Charakteristisch für Kolloide ist ihre trübe, leimartige Beschaffenheit, die beispielsweise bei Rauch, Nebel, Schaum, Milch, Blut, Kaffee, Tinten und Farben beobachtet werden kann. Bei einem kolloidalen System liegen die Partikel besonders fein verteilt in einem kontinuierlichen Medium vor. Hierbei können sich sowohl die Partikel als auch das kontinuierliche Medium in einem festen, flüssigen oder gasförmigen Zustand befinden. Beispiele für mögliche Kombinationsmöglichkeiten sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Beispiele kolloidaler Systeme (nach Referenz^[1]).

Bezeichnung	Kolloid	Dispersionsmittel	Beispiele
Feste Sole	Fest	fest	Goldrubinglas
Suspensionen	Fest	flüssig	Farben, Lacke
Feste Aerosole	Fest	gasförmig	Rauch, Staub
Feste Emulsionen	flüssig	fest	Opal, Perlen
Emulsionen	flüssig	flüssig	Milch, Butter
Flüssige Aerosole	flüssig	gasförmig	Nebel, Haarspray
Feste Schäume	gasförmig	fest	Bimsstein, Styropor
Flüssige Schäume	gasförmig	flüssig	Seifenschaum

Theoretische Grundlagen

Nach H. Staudinger werden die kolloidalen Systeme in Dispersionskolloide, Molekülkolloide und Assoziationskolloide eingeteilt. Diese Einteilung lässt sich im Wesentlichen auf thermodynamische und strukturelle Überlegungen zurückführen. Bei den sogenannten Dispersionskolloiden handelt es sich um thermodynamisch instabile Systeme, deren Kolloide sich gegenüber dem Dispersionsmedium hydrophob verhalten. Sie neigen daher zur Auflösung oder Agglomeration, weshalb eine Stabilisierung der Kolloide notwendig ist. Molekülkolloide stellen thermodynamisch stabile Systeme dar, deren Partikelgröße aus Makromolekülen wie z.B. Polysacchariden gebildet wird. Diese Makromoleküle entstehen durch die kovalente Verknüpfung von durchschnittlich 10^3 bis 10^9 Atomen. Als Assoziationskolloide werden thermodynamisch stabile, hydrophile Systeme bezeichnet, die durch Zusammenlagerung von Tensideinzelmolekülen sogenannte Mizellen bilden. Als Dispersion wird ein kolloidales System bezeichnet, bei dem eine feste Phase in einem flüssigen Dispersionsmedium fein verteilt ist. Insbesondere können Nanopartikel so dispergiert vorliegen.

Allgemein können Nanopartikel als kleiner Ausschnitt eines Festkörpergitters betrachtet werden. Die Synthese kann daher wie bei den entsprechenden Festkörpern erfolgen. Es gibt grundsätzlich zwei Methoden, um Nanopartikel zu synthetisieren. Bei der *Top-down*-Methode wird ein makrokristallines Material durch mechanische Einwirkung auf eine nanoskalige Dimension verkleinert. Die sogenannte *Bottom-up*-Methode geht dagegen vom atomaren Zustand aus. Die Synthese beginnt mit der Keimbildung. In der fortsetzenden Reaktion wird die Oberfläche mit weiteren Atomen gesättigt, wodurch die Nanopartikel wachsen. Zur Herstellung von Nanopartikeln muss dieses Wachstum gestoppt werden. Dazu werden passivierende Moleküle benötigt, die die Oberfläche sterisch oder elektrostatisch schützen.

2.1.2 Alterung und Stabilität kolloidaler Systeme

Eine besondere Eigenschaft von Kolloiden ist ihre große spezifische Oberfläche im Vergleich zu ihrem geringen Volumen. Dadurch dominieren in den Kolloiden die Oberflächeneigenschaften stark gegenüber den Festkörpereigenschaften. Allgemein streben Systeme den Zustand der geringsten freien Energie an. Aufgrund der großen Oberfläche der Kolloide ist in Dispersionen die Zunahme der freien Energie proportional zu der gebildeten Partikeloberfläche. Wird eine Substanz in einem Dispersionsmedium dispergiert, so wird die freie Energie des Systems erhöht. Die Kolloide sind thermodynamisch instabil. Jedes System hat das Bestreben, einen thermodynamisch stabilen Zustand zu erreichen. Dieser Prozess wird bei Dispersionen als Alterung bezeichnet. Durch Anziehungskräfte, die van-der-Waals-Kräfte, aggregieren die Kolloide während der Alterung zu größeren Teilchen. Durch diese Aggregation wird die Oberfläche verkleinert, und das System erreicht einen thermodynamisch stabilen Zustand. Für die Alterungsgeschwindigkeit gilt:

Theoretische Grundlagen

$$\frac{dm}{dt} = \frac{qDc_0}{\delta} \left[\frac{\sigma_{sl}}{e^{f(r_1)RT}} - \frac{\sigma_{sl}}{e^{f(r_2)RT}} \right]$$

(Gleichung 1)

dm/dt : Alterungsgeschwindigkeit

D : Diffusionskoeffizient

c_0 : Löslichkeit der makroskopischen Phase

δ : Viskosität

σ_{sl} : Grenzflächenspannung

r_1, r_2 : Radien der Kolloide

T : Temperatur

Nach Gleichung 1 sollten streng monodisperse, kolloide Systeme nicht altern. Es ist jedoch kaum möglich, solche Systeme herzustellen. Allerdings altern monodisperse Kolloide tatsächlich wesentlich langsamer. Die Alterung von Partikeln kann als natürlicher, spontan und langsam ablaufender Prozess des Zerfalls der kolloidalen Dispersion beschrieben werden. Dieser Prozess kann auch durch die Zugabe von Elektrolyten beschleunigt werden. Dadurch werden gleichzeitig Informationen über den Ladungsaufbau der kolloidalen Partikel erhalten. Eine Temperaturerhöhung beschleunigt ebenfalls die Alterung, da die Löslichkeit und die Diffusionskoeffizienten mit steigender Temperatur zunehmen. Dies führt aufgrund der erhöhten Brownschen Molekularbewegung ebenfalls zur Aggregation der Partikel. Es kommt zu einer Zusammenlagerung von kolloidalen Teilchen zu größeren Aggregaten. Diese werden unter den gegebenen Bedingungen auch als Agglomerate bezeichnet.

In einem kolloid-dispersen System herrschen abstoßende und anziehende Kräfte. Die Anziehungskräfte beruhen auf fluktuierenden Dipol-Wechselwirkungen und werden auch als van-der-Waals-Kräfte bezeichnet. Die abstoßenden Kräfte

Theoretische Grundlagen

dagegen entstehen durch repulsive elektrostatische Wechselwirkungen. Diese beruhen auf der Abstoßung gleicher Ladungen, die aus den Ladungswolken der Partikel resultieren. Bei der Dispersion von Partikeln in einem Medium entsteht an deren Oberfläche eine Ladung, die als Ladungswolke bezeichnet wird. Die Ladungswolke baut sich symmetrisch um die Teilchen auf. Durch die Adsorption von Ionen auf der Partikeloberfläche wird diese Ladungswolke kompensiert. Es kommt zur Ausbildung einer elektrostatischen Doppelschicht. Diese elektrostatische Doppelschicht wird durch das Stern-Modell beschrieben. Die Doppelschicht selbst besteht aus einer starren, stark gebundenen Schicht, der sogenannten Stern-Schicht, und einer diffusen Schicht. Bewegen sich nun die Partikel durch die kontinuierliche Phase, so wandern die starre Schicht und ein Teil der diffusen Schicht mit. Der Radius dieser sich mit dem Partikel bewegendes Schicht wird als Scherradius bezeichnet. Zwischen der starren und der diffusen Schicht entsteht ein Potentialabfall bis zum umgebenden Medium. Dieser Potentialabfall ist in zwei Bereiche eingeteilt. In der Stern-Schicht zeigt sich ein linearer Verlauf, während das Potential in der diffusen Schicht exponentiell abfällt. Die daraus resultierende Potentialdifferenz wird als Zetapotential bezeichnet. Abbildung 1 zeigt die schematische Darstellung der elektrostatischen Doppelschicht und die daraus resultierenden Potentialverläufe.

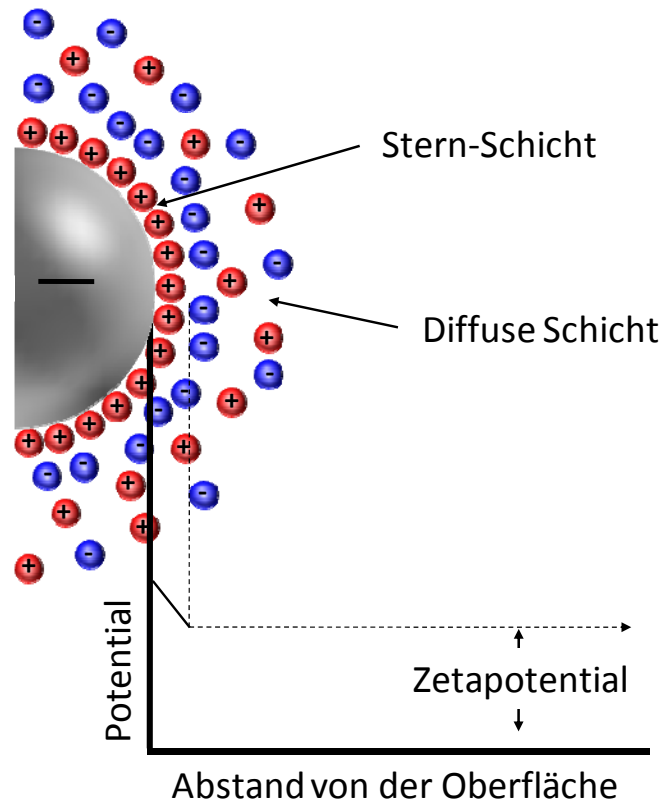


Abbildung 1: Schematische Darstellung der elektrostatischen Doppelschicht.

Das Zetapotential stellt eine wichtige Größe für die Stabilität von Kolloiden dar. Ist der Betrag des Zetapotentials einer kolloidalen Dispersion größer als $\pm 30 \text{ mV}$, so gilt diese Dispersion als elektrostatisch stabil.

Die Stabilität von Kolloiden wird durch die sogenannte DLVO-Theorie (nach Derjagin, Landau, Verwey und Overbeek)^[2] beschrieben. Danach wird die Stabilität eines kolloid-dispersen Systems durch eine gesamte Wechselwirkungskraft, die sich aus der Überlagerung zwischen anziehenden und abstoßenden Wechselwirkungskräften zusammensetzt, dargestellt. Abbildung 2 zeigt die Potentialverläufe für die unterschiedlichen Wechselwirkungen.

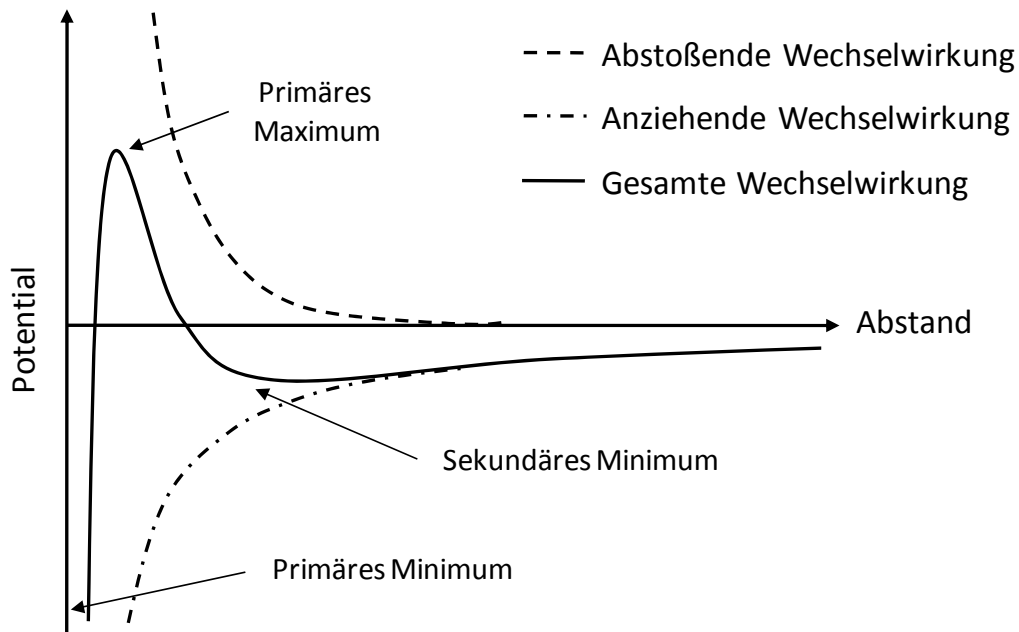


Abbildung 2: Potentialverlauf einer kolloidalen Dispersion in Abhängigkeit des Abstandes zweier Teilchen.

Das primäre Maximum ist ein Maß für die Stabilität der Dispersion. Je höher diese sogenannte Energiebarriere ist, umso stabiler die Dispersion. Sowohl am primären, als auch am sekundären Minimum können die Partikel koagulieren. Allerdings sind die Bindungskräfte im sekundären Minimum wesentlich schwächer als im primären Minimum. Befinden sich die Teilchen in dem sekundären Minimum, so kommt es zu einer erhöhten Viskosität der Dispersion. Die möglichen Agglomerationen, die daraus resultieren, sind reversibel. Im primären Minimum dagegen erfolgt eine stabile Agglomeration, die durch Rekristallisationseffekte geprägt ist.

Neben der elektrostatischen Stabilisierung gibt es auch die Möglichkeit, die Kolloide sterisch zu stabilisieren. Bei der auch entropisch genannten Kolloidstabilisierung adsorbieren Moleküle oder Polymere auf der Partikeloberfläche. Diese Liganden bilden sterisch anspruchsvolle Raumgruppen, die eine Agglomeration verhindern können. Nähern sich zwei Partikel an, so wird die Beweglichkeit der adsorbierten Polymerketten behindert,

wodurch die Entropie vermindert wird. Da ein System immer eine maximale Entropie anstrebt, werden die Partikel einen gewissen Abstand zueinander behalten. Abbildung 3 zeigt schematisch die sterische Stabilisierung von Kolloiden.

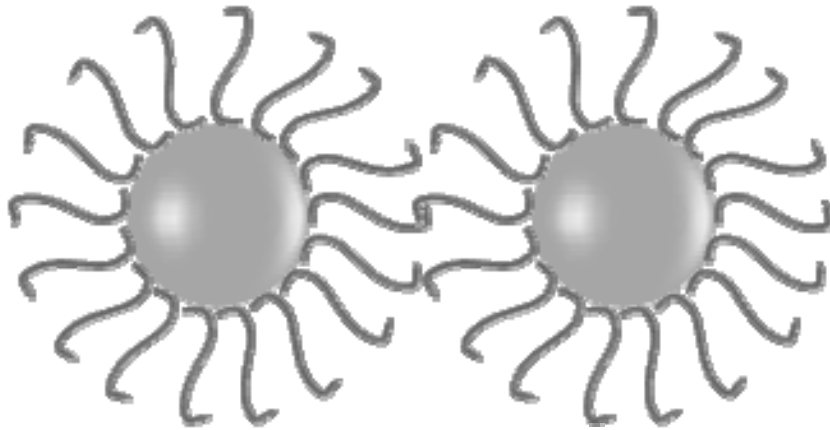


Abbildung 3: Sterische Stabilisierung von Kolloiden durch Polymeradsorption.

Allerdings ist diese Schutzwirkung der Polymere abhängig von der eingesetzten Polymerkonzentration. Die Stabilität der Kolloide ist für unterschiedliche Polymerkonzentrationen in Abbildung 4 dargestellt.

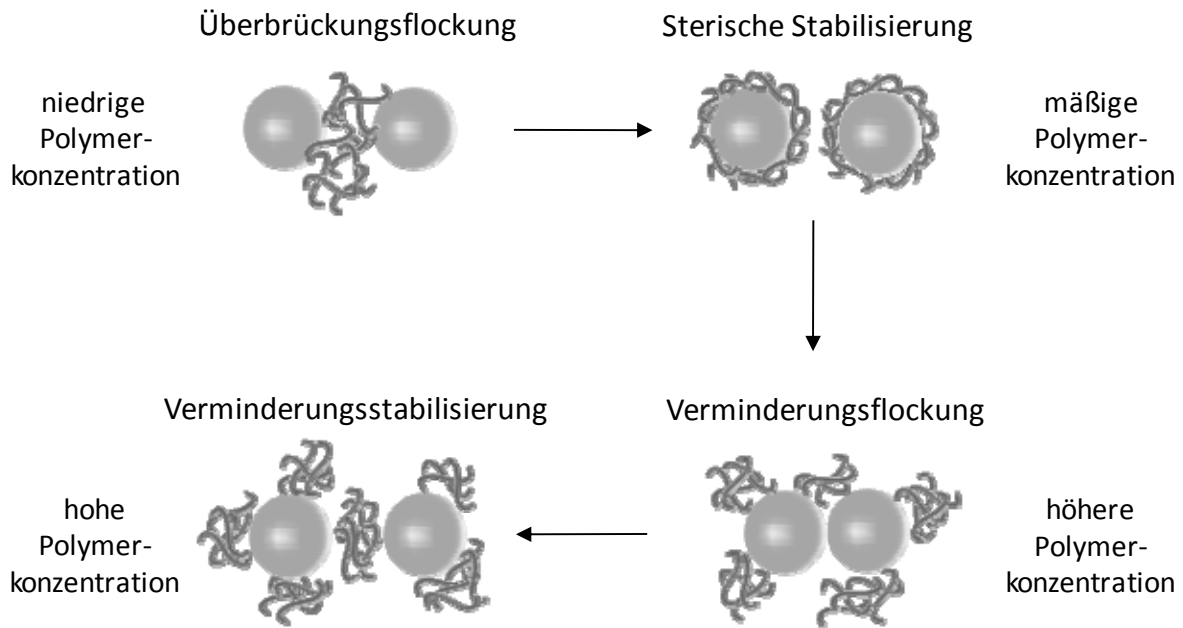


Abbildung 4: Abhängigkeit der Stabilität von Kolloiden von der eingesetzten Polymerkonzentration.

Bei einer zu geringen Polymerkonzentration kann die Adsorption eines Polymers an mehreren Partikeln stattfinden. Dieser Zustand wird als Überbrückungsflockung bezeichnet. Durch eine ausreichende Menge an Polymer können die Partikel sterisch stabilisiert werden. Die erhaltenen Dispersionen sind stabil. Eine weitere Erhöhung der Polymerkonzentration führt erst zur sogenannten Verminderungsflockung, und bei weiterer Polymerzugabe zur Verminderungsstabilisierung. Allein durch die Anwesenheit und die Menge der Polymere wird die Wahrscheinlichkeit eines Zusammenstoßes zwischen zwei Teilchen stark vermindert. Zusätzlich wird durch den Zusatz von Polymeren die Viskosität des Dispersionsmittels erhöht, während gleichzeitig der Dichteunterschied zwischen den Partikeln und dem Dispersionsmedium erniedrigt wird. Durch die erhöhte Viskosität bewegen sich die Teilchen langsamer, und die Annäherung zweier Teilchen wird erschwert. Durch den

geringeren Dichteunterschied wird die Sedimentationsgeschwindigkeit der Partikel in der Dispersion verringert.

Die sterische oder elektrostatische Stabilisierung von Nanopartikeln durch die Funktionalisierung mit verschiedenen Polymeren ist in der Literatur schon vielfach beschrieben. Silber-^[3] und Goldnanopartikel^[4] können mit dem ungeladenen Polymer Polyvinylpyrrolidon stabilisiert werden. Die Polyelektrolyte Polymethacrylat und Polylactid können zur Stabilisierung von Kobalt-^[5] und Eisenoxid-Nanopartikeln^[6] eingesetzt werden. Für die Funktionalisierung von Calciumphosphat-Nanopartikeln können sowohl kationische Polyelektrolyte wie Polyallylaminhydrochlorid als auch anionische Polyelektrolyte wie Polyacrylsäure^[7] und Polystyrolsulfonat^[8] verwendet werden.

2.1 Metallnanokristalle

Nanokristalle sind aus der modernen Wissenschaft und Technologie nicht mehr wegzudenken. Die Eigenschaften der Nanokristalle sind durch die Änderung der Form beeinflussbar und können somit auf bestimmte Anwendungen hin gezielt zugeschnitten werden. Als Nanokristalle werden Kristalle bezeichnet, die in mindestens einer Raumrichtung eine Dimension zwischen 1 und 100 nm haben.^[9] Die Nanokristalle nehmen eine besondere Stellung zwischen Atomen und makroskopischen Festkörpern ein. Ihre daraus resultierenden besonderen Eigenschaften machen sie interessant für viele Anwendungsmöglichkeiten.^[10] Eine große Rolle im Bereich der anorganischen Festkörper spielen die Metalle. Die Metallnanokristalle werden in vielen verschiedenen Anwendungsgebieten wie Katalyse,^[11,12] Datenspeicherung,^[13] Fotografie,^[14] Elektronik^[15] und weiteren Bereichen^[16] eingesetzt. Es werden aber auch bereits neue Anwendungsgebiete wie Photonik,^[17] Sensortechnik^[18] und Medizin^[19] erforscht. Die Eigenschaften der Metallnanokristalle werden von einigen physikalischen Parametern bestimmt. Hierzu gehören insbesondere die Größe, Form und innere Struktur. Beispielsweise können die Nanopartikel hohl oder kompakt sein.^[20] Die Eigenschaften der Nanokristalle können durch Veränderung der einzelnen Parameter gezielt abgestimmt werden. Durch Verkleinerung der Kristalle kann die katalytische Aktivität gesteigert werden. Dies wird hauptsächlich durch die Oberflächenatome und die Begrenzungsflächen des Nanokristalls bestimmt.^[21,22] Die Formkontrolle spielt beim Einsatz von Metallnanokristallen eine bedeutende Rolle. In den letzten zehn Jahren wurde eine Vielzahl verschieden geformter Nanokristalle hergestellt. Einige Beispiele, welche Formen von welchen Metallen bis jetzt synthetisiert werden konnten, sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Theoretische Grundlagen

Tabelle 2: Beispiele für verschieden geformte Metall-Nanokristalle (nach Referenz^[23]).

Struktur	Form	Metalle
Einkristall	Würfel	Pd, Ag, Au, Pt, Cu, Rh, Bi, Fe
	Oktaeder	Pd, Ag, Au, Pt
	Tetraeder	Ag, Au, Pt, h
	Stäbchen	Pd, Ag, Au, Pt, Fe, Co, Ni
Einfach verzwillingt	Bipyramide	Pd, Ag
	Zylinder	Ag
Mehrfach verzwillingt	Dekaeder	Pd, Ag, Au
	Ikosaeder	Pd, Au
	Pentagonaler Stab / Draht	Pd, Ag, Au, Cu
	Dreieckiges / hexagonales Plättchen	Pd, Ag, Au, Cu, Pb, Bi, Co, Ni

Die Synthese der Nanokristalle kann typischerweise in die drei folgenden Einzelschritte unterteilt werden:

- Bildung von Keimen
- Bildung von makroskopischen Kristallkeimen
- Wachstum zu Nanokristallen

Die erste Phase ist die Keimbildungsphase. Eine typische Synthese beginnt damit, dass eine Verbindung, meist ein Salz des zu synthetisierenden Metalls, zersetzt oder zu Atomen reduziert wird. Diese Atome bilden die Bausteine des späteren Nanokristalls. La Mer et al. haben bereits 1950 einen Mechanismus zur Keimbildung vorgeschlagen.^[24,25] Der Mechanismus wurde anhand der Synthese von monodispersen Schwefelkolloiden erforscht. Zunächst wird eine Vorstufe zersetzt, wodurch die Konzentration der Metallatome ansteigt, bis der Übersättigungspunkt überschritten wird. An diesem Punkt beginnt die

homogene Keimbildung der Atome zu sogenannten Kristallisationskernen, welche dann schnell wachsen. Dadurch sinkt die Konzentration der Metallatome wieder. Wird die minimale Übersättigung unterschritten, so bilden sich keine weiteren Keime mehr. Das sogenannte La Mer-Diagramm ist in Abbildung 5 schematisch dargestellt.

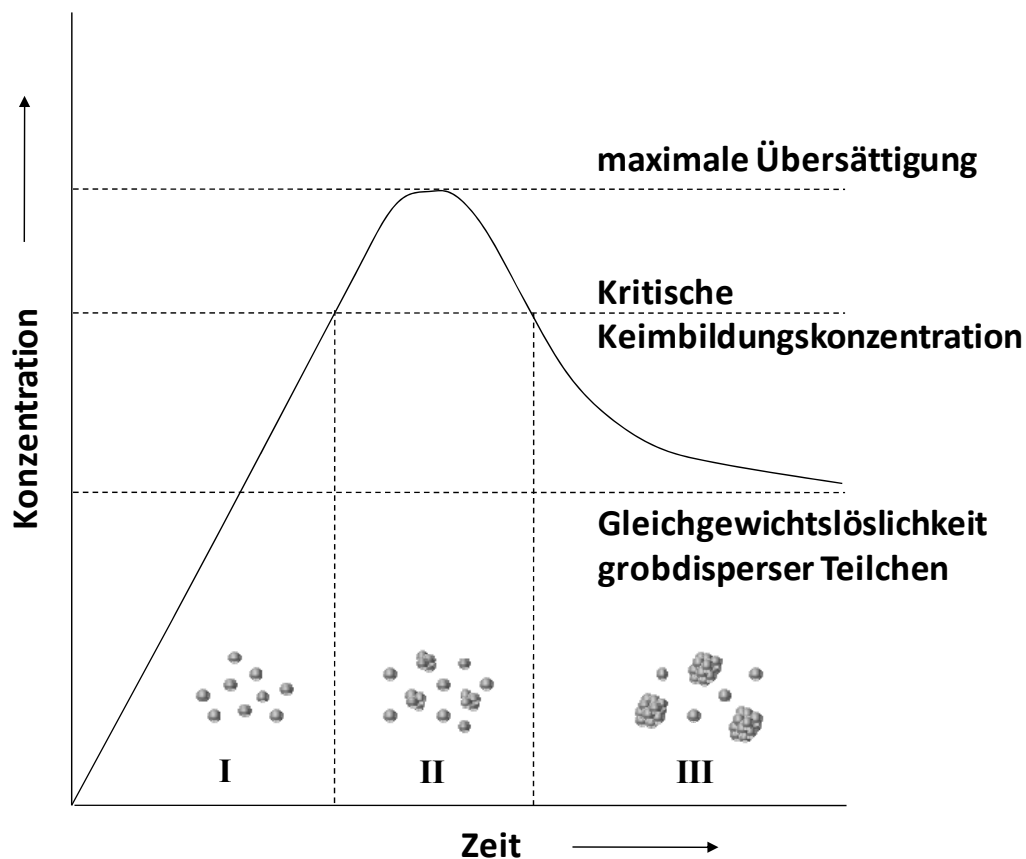


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Keimbildung nach La Mer.

Solange noch neue Atome gebildet werden, wachsen die Kristallisationskerne, bis ein Gleichgewicht zwischen den Atomen in der Lösung und den Oberflächenatomen des Nanokristalls erreicht wird (Phase I). Der nächste Schritt ist in Phase II die Bildung von Kristallisationskeimen. Sobald die Kristallisationskerne eine kritische Größe erreicht haben, wird durch

Strukturfluktuationen der benötigte Energieaufwand so groß, dass die gebildeten Cluster ihre Struktur nicht mehr ändern. An diesem Punkt spricht man von Kristallisationskeimen. Diese können einkristalline oder einfach bzw. mehrfach verzwilligte Strukturen sein.

Je nach Art der Struktur der Kristallisationskeime können unterschiedlich geformte Nanokristalle entstehen.^[23,26,27] Um nur eine Form zu erhalten, muss die Struktur der Keime kontrolliert werden. Dies kann sowohl thermodynamisch als auch kinetisch erfolgen. Bei einer thermodynamisch kontrollierten Reaktion wird hauptsächlich das stabilste Produkt gebildet. Eine treibende Kraft hierfür ist die Oberflächenenergie. Die kinetische Kontrolle der Keimbildung erfolgt über die Zersetzungs- bzw. Reduktionsgeschwindigkeit der Ausgangsverbindung. Durch eine langsame Geschwindigkeit bilden sich Kristallisationskerne und -keime, die durch zufällige hexagonale dichte Packungen mit Stapelfehlern entstehen.^[28] Dadurch kommt es zu höherenergetischen Strukturen als thermodynamisch anzunehmen wäre. Beispielsweise sind plättchenförmige Kristalle nie thermodynamisch günstig. Sie entstehen nur, wenn Keimbildung und Wachstum vom thermodynamisch kontrollierten Weg abweichen. Im Gegensatz zur thermodynamischen Kontrolle ist die kinetische Kontrolle beeinflussbar. Dies ist unter anderem durch eine Verlangsamung des Zerfalls der Vorstufe,^[29] ein schwaches Reduktionsmittel,^[30] die Kopplung der Reduktion mit einem Oxidationsprozess^[31] oder die Ausnutzung der Ostwald-Reifung möglich.^[32] Alle diese Methoden basieren darauf, dass durch Erniedrigung der Atomkonzentration in der Lösung das autokatalytische Wachstum zu Polyederstrukturen verhindert wird.

Phase III der Keimbildung nach La Mer ist das Wachstum der Keime zu Nanokristallen. Dies geschieht durch Anlagerung von weiteren Metallatomen an die Oberfläche. Das Wachstum wird durch die Konkurrenz der abnehmenden Volumenenergie, die das Wachstum fördert, und die Zunahme der Oberflächenenergie, die die Auflösung fördert, bestimmt. Durch die Zugabe

eines Liganden kann die Nanokristallform gezielt gesteuert werden. Die freien Oberflächenenergien der einzelnen Flächen können durch Chemisorption der Liganden thermodynamisch und kinetisch verändert werden. Dadurch wird ihre relative Wachstumsgeschwindigkeit verändert und es entstehen definierte Formen.

2.2 Silber-Nanopartikel

Silber-Nanopartikel können mit verschiedenen Größen, Formen, Ladungen und unterschiedlicher Oberflächenfunktionalisierung hergestellt werden. Die häufigste Silberverbindung, die als Vorstufe für die Silber-Nanopartikel verwendet wird, ist Silbernitrat. Der Grund hierfür ist die gute Löslichkeit von Silbernitrat in polaren Lösemitteln. Die Darstellung von Silber-Nanopartikeln mit verschiedenen Größen und Formen wurde bereits detailliert untersucht. Silbernitrat wird hierzu zuerst durch verschiedene reduzierende Stoffe wie Alkohole,^[3,33-35] Zucker,^[36,37] Citrat,^[38-40] Natriumborhydrid,^[41,42] Hydrazin^[43] und Kalium-Natrium-Tartrat^[44] zu elementarem Silber reduziert. Die Keimbildung und das Wachstum dieser Nanokristalle können mit adäquaten Stabilisatoren kontrolliert werden. Neben der nasschemischen Synthese können die Silber-Nanopartikel auch in der Gasphase hergestellt werden.^[45,46] In diesem Fall werden unfunktionalisierte Nanopartikel erhalten. Allerdings sind diese Partikel aufgrund des hydrophobischen Charakters des nackten Silbers nicht in organischen Phasen dispergierbar.^[47] In allen nasschemischen Synthesen werden die Partikel mit einem Stabilisator umhüllt, um das Wachsen zu Mikropartikeln zu verhindern.^[48] Diese Hülle hat einen großen Einfluss auf die physikochemischen Eigenschaften und damit auch auf die biologische Aktivität der Silber-Nanopartikel. Zur Stabilisierung der Nanopartikel werden in der Literatur bereits viele verschiedene Möglichkeiten aufgeführt. Citrat kann nicht nur zur Synthese von Silber-Nanopartikeln eingesetzt werden, sondern ist auch in der

Lage, die Nanopartikel elektrostatisch zu stabilisieren.^[49] Die Methode wurde erstmals von Turkevich et al. zur Synthese von Citrat-stabilisierten Gold-Nanopartikeln aus Tetrachlorogoldsäure eingesetzt.^[50] Das neutrale Polymer Polyvinylpyrrolidon (PVP) wird am häufigsten zur Stabilisierung von Silber-Nanopartikeln verwendet.^[51-53] Auch Dodekanthiol wird zur Stabilisierung von kugelförmigen Silber-Nanopartikeln eingesetzt.^[54] Die Silber-Nanopartikel zeigen eine große Vielfalt an verschiedenen Formen, die synthetisiert werden können.^[55] Dazu gehören monodisperse kugelförmige Nanopartikel,^[56] Nanowürfel,^[33,57,58] Nanoprismen,^[59,60] Nanostäbchen,^[61-64] Bipyramiden,^[35] Nanobänder,^[65] hohle Nanokabel^[66] und Nanoscheiben.^[67,68] Nanostäbchen und Nanoplättchen mit kontrollierbarem Durchmesser können beispielsweise mit stäbchenförmigen Mizellen aus Cetyltrimethylammoniumbromid (CTAB) als Template hergestellt werden.^[62,69] Auch über eine kontinuierliche Synthese durch die Reduktion von Silbernitrat mit Natriumborhydrid können Nanostäbchen hergestellt werden.^[70] Neben der formkontrollierten Synthese kann eine Partikelform in eine andere umgewandelt werden. Durch Ostwald-Reifung wachsen kugelförmige PVP-stabilisierte Silber-Nanopartikel zu dreieckigen Plättchen und Stäbchen.^[71] Über eine Hydrothermal-Synthese können aus kugelförmigen Partikeln verschiedene Formen wie Drähte, Würfel oder Dreiecke hergestellt werden.^[72] Außer der Darstellung von Silber-Nanopartikeln in der Gasphase oder nasschemisch können die Partikel auch photoinduziert aus Silberkeimen hergestellt werden.^[73] Vor allem Nanoprismen werden durch die Bestrahlung von kugelförmigen Partikeln mit Licht hergestellt.^[74] Eine besondere Eigenschaft von Silber, Gold und auch Kupfer ist die Oberflächenplasmonenresonanz,^[75] welche bei der oberflächenverstärkten Raman-Streuung (*surface enhanced raman scattering*, SERS) ausgenutzt wird. Der spektrale Bereich hängt dabei stark von der Partikelform ab.^[76-79] Beispielsweise werden Schichten von PVP-stabilisierten Nanodrähten als Substrate für SERS eingesetzt.^[80] Die verschiedenen Formen der Silber-

Nanopartikel können auch als Template für hohle Goldpartikel dienen. Werden beispielsweise Silber-Nanowürfel mit einem Goldsalz versetzt, so werden die Goldionen zu Gold reduziert, während das Silber wieder oxidiert wird und hohle Goldkästen entstehen.^[81] Aufgrund der großen Vielfalt an Silber-Nanopartikeln und der bakteriziden Eigenschaften des Silbers werden diese immer häufiger für antimikrobielle Beschichtungen eingesetzt.

2.3 Silber und seine biologische Wirkung

Der bakterizide Charakter von Silber ist schon lange bekannt.^[82] Bereits in Griechenland und im alten Rom wurden Silbermünzen zur Desinfektion ins Wasser gegeben, wodurch die Möglichkeit der Konservierung von Trinkwasser bestand.^[83] Aufgrund der antimikrobiellen Eigenschaften bot die Verwendung von Silber einen Infektionsschutz. Gegen Ende des 19. Jahrhunderts wurde Silber auch zunehmend in der Medizin zur Behandlung von Brandwunden^[84] und pathogenen Keimen eingesetzt. Heute werden Silber-Nanopartikel aufgrund ihrer hohen antibakteriellen Aktivität^[85-87] immer häufiger in den folgenden Bereichen als Beschichtung eingesetzt: Bekleidung, elektrische Haushaltsgeräte, biomedizinische Implantate und elektronische Geräte.^[88-90] Aufgrund ihrer antiseptischen Wirkung werden Silberverbindungen (z.B. Silbersulfadiazin) klinisch eingesetzt, um Hautinfektionen bei der Behandlung von Brandwunden zu verhindern.^[91,92] Außerdem finden mit Silberionen beschichtete Katheter häufig Einsatz wegen ihrer antiseptischen Wirkung.^[90,93-95] Allerdings konnte auch nachgewiesen werden, dass mit Silber beschichtete Wundverbände Silber-Nanopartikel wieder freigeben.^[96] Durch die rasante Entwicklung der Nanotechnologie und Nanomedizin spielen disperse Nanopartikel auch eine immer größer werdende Rolle in der Biomedizin. Sie werden als Träger für kontrollierte Wirkstofffreisetzung,^[97-99] Krebstherapie und Gentherapie^[100-103]

eingesetzt. Die reaktive Spezies in nanopartikulären Systemen mit Silber sind Silberionen selbst, die im Gleichgewicht mit der festen Phase des Silbers stehen und aus den Partikeln freigesetzt werden. Je größer die spezifische Oberfläche ist, desto mehr Ionen können in Lösung gehen.

Die Zellen von Mikroorganismen weisen verschiedene Angriffspunkte für Silberionen auf. Diese können mit Thiol-Gruppen in Enzymen, Funktionsproteinen und anderen Zellstrukturen interagieren und eine katalytische Oxidation der SH-Gruppen bewirken.^[104] Dabei können funktionelle Gruppen, die Schwefel, Sauerstoff und Stickstoff enthalten, als Elektronen-Donor-Gruppen fungieren. Sie befinden sich in vielen Zellbestandteilen wie der Atmungskette, Membranen, Enzymen und DNA.^[105] Dadurch kann das Silber in den Zellen an vielen Orten gleichzeitig angreifen. Enzyme können durch den Austausch von Metallatomen, die als Zentralatome wichtig für die Funktion der Enzyme sind, durch Silberionen inhibiert werden. Bei der Reaktion mit Zellmembranen können Transportvorgänge und das Energie-Transfer-System, welches für die Atmungskette wichtig ist, blockiert werden. Die Zellstruktur kann durch strukturelle Veränderungen der entsprechenden Proteine derart verändert werden, dass es zum Verlust der Membranintegrität der Zelle kommt und damit lebenswichtige Vorgänge der Zelle nicht mehr stattfinden können. Durch die Bindung von Silberionen an Nukleinsäuren wie DNA und RNA wird die DNA-Replikation und somit schließlich auch die Zellteilung gestört.^[106] Die große Anzahl der Angriffspunkte für Silber in Bakterien führt dazu, dass sich die Resistenzentwicklung auf ein Minimum reduziert. Es konnte bereits vor 25 Jahren nachgewiesen werden, dass Bakterien sehr schnell ihre Resistenz gegenüber Antibiotika erhöhen.^[107] Aufgrund dieser wachsenden Resistenz von Bakterien und Keimen gegenüber Antibiotika, wird Silber in der Medizin als Alternative immer häufiger verwendet.^[108]

Es gibt allerdings große Unterschiede zwischen der Toxizität von Silberionen gegenüber Mikroorganismen und der Toxizität gegenüber höheren Organismen. Die Toxizität gegenüber Mikroorganismen ist deutlich höher.^[109] Das deutet auf ein bisher unverstandenes und unerforschtes Zwischenspiel zwischen dem Silber und den biologischen Systemen hin. Zum Beispiel ist es möglich, dass ein komplettes Partikel von lebenden Zellen aufgenommen wird und Silberionen im Inneren der Zellen aus den Partikeln herausgelöst werden.^[110] Als Modellsystem zur Erforschung der Wirkung von Silber in höheren Organismen sind Silber-Nanopartikel besonders gut geeignet. Trotz des breiten Anwendungsbereichs von Silber-Nanopartikeln gibt es eine große Informationslücke bezüglich ihrer biologischen Effekte auf humane Zellen.^[111] Daher ist das Interesse an der Untersuchung der biologischen Effekte von Silber-Nanopartikeln immer größer geworden^[112], vor allem, da Silber-Nanopartikel im Moment zu den am meisten für den kommerziellen Gebrauch eingesetzten Nanomaterialien zählen.^[113,114] Bisherige Untersuchungen zeigen allerdings, dass biologische und toxische Effekte der Silber-Nanopartikel von ihrer Art und Größe sowie von den verschiedenen eingesetzten Zelltypen abhängen.

Neben den bereits bekannten bakteriziden Eigenschaften von Silberionen^[115] gibt es einige Studien, die über den unterschiedlichen Einfluss von Silber-Nanopartikeln auf Zellen und Bakterien berichten. Mit dem HIV-I-Virus gehen die Silber-Nanopartikel z.B. eine größenabhängige Wechselwirkung ein. Partikel in einem Größenbereich von 1 bis 10 nm können sich an den Virus binden und diesen dadurch daran hindern, sich an Wirtszellen zu binden.^[116] Auch kann die durch Silber-Nanopartikel induzierte Zellapoptose, der induzierte Zelltod, für die *in vitro*-Gentherapie eingesetzt werden.^[117] Neben der Größenabhängigkeit wurde auch bereits eine formabhängige Wechselwirkung nachgewiesen. Eine komplette Hemmung des Wachstums des gram-negativen Bakteriums *Escherichia coli* wurde bei der Anwesenheit von flachen dreieckigen Nanopartikeln mit einem gesamten Silbergehalt von 0,01 g L⁻¹

Silber beobachtet, während bei dem Einsatz von kugelförmigen Nanopartikeln ein Silbergehalt von 0,5 bis 1 g L⁻¹ benötigt wurde. Stäbchen-förmige Nanopartikel zeigten dagegen kaum einen Effekt. Bei der Anwesenheit von 1 g L⁻¹ Nanopartikeln kam es sogar zum Wachstum einiger Bakterienkolonien.^[118] Auf biolumineszente Bakterien wirken Silber-Nanopartikel ebenfalls toxisch, indem sie Proteine und Membranen zerstören.^[119] Neben der toxischen Wirkung von Silber-Nanopartikel können kleine Mengen aber auch als biologische Marker benutzt werden. Sie binden sich an die Plasmamembran lebender Zellen, und unter Bestrahlung streuen sie intensiv Licht.^[120]

2.4 Verwendete Untersuchungsmethoden

2.4.1 Dynamische Lichtstreuung (DLS) und Zetapotential

Die Dynamische Lichtstreuung ist eine Methode zur Bestimmung der hydrodynamischen Radien von Molekülen und Partikeln. Hierbei wird das gestreute Licht eines Lasers an suspendierten Nanopartikeln oder an gelösten Makromolekülen analysiert. Wenn ein Laserstrahl auf ein Teilchen trifft, so wird von diesem das Licht in alle Richtungen gestreut. Ist der Durchmesser der streuenden Teilchen kleiner als die eingestrahlte Wellenlänge, so wird von der Rayleigh-Streuung gesprochen. Bei der Dynamischen Lichtstreuung wird das Licht des Lasers an den kolloid-dispersen Partikeln gestreut. Aufgrund der Brownschen Molekularbewegung sind die Partikel in ständiger Bewegung. Dadurch kommt es zu konstruktiven und destruktiven Interferenzen des Streulichts. Dies führt zu Fluktuationen in der Streuintensität, da sich die Abstände der Streuzentren zueinander in Abhängigkeit von der Partikelgröße durch die Brownsche Molekularbewegung ständig ändern. Mit Hilfe einer Autokorrelationsfunktion wird die Diffusionsgeschwindigkeit unter Berücksichtigung der Korrelation zwischen der Zeit und der Streuintensität berechnet. Hieraus lässt sich der hydrodynamische Radius kolloid-disperser Partikel über die Stokes-Einstein-Beziehung errechnen:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h}$$

(Gleichung 2)

D : Diffusionskoeffizient

k_B : Boltzmann-Konstante

η : Viskosität des Dispersionsmittels

R_h : hydrodynamischer Radius

Der Polydispersitätsindex (PDI) wird über eine interne Prozedur bestimmt, bei der die Verteilung der Partikelgröße von dem Abfall der konstanten Streuung der Autokorrelationsfunktion auf Basis der Stokes-Einstein-Beziehung abgeleitet wird. Der PDI beschreibt die Größenverteilung der kolloidalen Partikel in einem System. Bei ideal monodispersen Größenverteilungen hat der PDI einen Wert von 0.

Das Zetapotential ist das elektrische Potential eines bewegten Teilchens an seiner Scherschicht. Da das Zetapotential nicht direkt gemessen werden kann, wird es über die elektrophoretische Mobilität der Partikel in Dispersion bestimmt. Die Messzelle besitzt an beiden Enden Elektroden, an die eine definierte Wechselspannung angelegt wird. Die elektrophoretische Mobilität der Partikel steht im direkten Zusammenhang mit dem Zetapotential. Das von den im elektrischen Feld bewegten Partikeln gestreute Licht erfährt aufgrund des Doppler-Effektes eine Frequenzänderung, welche zur Bestimmung der Wanderungsgeschwindigkeit herangezogen wird. Mit Hilfe der Henry-Gleichung kann das Zetapotential direkt aus der elektrophoretischen Mobilität bestimmt werden.

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(\kappa\alpha)}{3\eta}$$

(Gleichung 3)

U_E : Elektrophoretische Mobilität

ε : Dielektrizitätskonstante der kontinuierlichen Phase

ζ : Zetapotential

$f(\kappa\alpha)$: Henry-Funktion (mit der Debyelänge κ und dem Partikelradius α)

η : Viskosität der kontinuierlichen Phase

Die in dieser Arbeit gezeigten Bestimmungen der Größenverteilung und des Zetapotentials wurden mit dem Malvern Zetasizer NanoZS (633 nm Laser) durchgeführt.

2.4.2 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Bei der Rasterelektronenmikroskopie wird die Oberflächentopographie einer Probe bis in den Nanometer-Bereich abgebildet. Dabei wird die Objektoberfläche mit einem feingebündelten Elektronenstrahl über elektromagnetische Linsen abgerastert. Hierzu werden die Elektronen thermisch emittiert, gebündelt und über angelegte Spannungen im Kilovoltbereich beschleunigt. Der Elektronenstrahl wird dann auf einen Punkt auf der Probe fokussiert. Dadurch entstehen in Wechselwirkung mit den Atomen der Probe sogenannte Rückstreu- und Sekundärelektronen. Diese werden vom Sekundärelektronendetektor registriert und letztendlich in ein Bild umgewandelt. Die Helligkeit der Bildoberfläche ist von der Anzahl der emittierten Elektronen abhängig. Das Auflösungsvermögen wird durch den Durchmesser des Primärstrahls und die Ausbreitung der gestreuten Elektronen der Probe bestimmt. Die mit einem Rasterelektronenmikroskop erzeugten Bilder

weisen dadurch eine hohe Tiefenschärfe auf. Um eine elektrische Aufladung nichtleitender Proben zu vermeiden, werden diese auf Siliziumwafer oder Kohleleitrads aufgebracht und zusätzlich mit dünnen Filmen aus Gold/Palladium bedampft.

Die in dieser Arbeit gezeigten REM-Aufnahmen wurden mit einem FEI Quanta FEG 400 angefertigt.

2.4.3 Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) und EELS

Die Transmissionselektronenmikroskopie ist eine Methode, bei der die Probe mit Hilfe eines Elektronenstrahls zur Strukturabbildung durchstrahlt wird. Die Elektronen werden hierbei thermisch emittiert und dann über eine angelegte Spannung beschleunigt. Der Elektronenstrahl wird von einem speziellen Linsensystem so auf die Probe abgelenkt, dass diese gleichmäßig ausgeleuchtet wird. Für die Abbildung der Probe sind verschiedene Wechselwirkungen zwischen Probe und Elektronen verantwortlich. Bei der Transmission können die Elektronen ungehindert passieren. Durch die elastische und die inelastische Streuung werden die Elektronen in der Probe gestreut. Mit einer speziellen Kontrastblende werden die gebeugten und die ungebeugten Elektronen getrennt. Da dickere Probenteile und Atome mit höherer Ordnungszahl stärker streuen, entsteht ein Bild mit verschiedenen Kontrasten. Durch ein Objektiv-Linsensystem wird ein sogenanntes Zwischenbild stark vergrößert auf einem Detektor abgebildet.

Bei der Elektronenenergieverlustspektroskopie (*Electron Energy Loss Spectroscopy*, EELS) wird ein monoenergetischer Elektronenstrahl an der Probenoberfläche reflektiert und die Energieverluste detektiert. Die eingestrahnten Primärelektronen können mit den geladenen Teilchen der Probe wechselwirken. Dabei kommt es zum Energieverlust der inelastisch gestreuten

Elektronen, da für diese Elektronen keine beliebigen Energieaufnahmen gestattet sind. Über einen Detektor wird der Energieverlust zwischen den eingestrahnten und den transmittierten Elektronen bestimmt. Der Analysator trennt dann über ein Magnetfeld die Elektronen nach den verschiedenen Energien auf, wobei Elektronen mit hoher Geschwindigkeit stärker abgelenkt werden als langsame Elektronen. Das resultierende EELS-Spektrum besteht aus Intensitätscounts in Abhängigkeit von der Energie der Elektronen und ist charakteristisch für jede Atomsorte.

Die in dieser Arbeit gezeigten TEM-Aufnahmen wurden mit einem 3000 FEG HRTEM von Jeol von Frau Dr. Luisa Ruiz am Institut für Physikalische Chemie in Madrid angefertigt.

2.4.4 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)

Die Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) ist eine quantitative analytische Methode. Dabei wird die Fähigkeit der Atome, Licht zu absorbieren, ausgenutzt. Zunächst wird die zu analysierende Probe mittels einer Flamme oder eines Graphitofens atomisiert. Anschließend erfolgt die Anregung der Elektronen mit Energie durch Licht verschiedener Wellenlängen und Intensitäten, welches durch eine Hohlkathodenlampe erzeugt wird. Dadurch werden die Elektronen in einen instabilen, angeregten Zustand überführt. Kehren die Elektronen nun in den Grundzustand zurück, so wird Energie in Form von Licht einer bestimmten Wellenlänge und Intensität frei. Über einen Detektor wird die Energiedifferenz zwischen eingestrahlttem und austretendem Licht gemessen. Da die Anzahl der atomisierten und angeregten Teilchen direkt proportional zur Konzentration der Probe ist, kann mit Hilfe der Absorption (Extinktion) des emittierten Lichts die Konzentration der Atome in der Probe über das Lambert-Beersche Gesetz direkt berechnet werden.

$$A = -\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon cd$$

(Gleichung 4)

- A : Absorption
 I_0 : Intensität des eingestrahnten Lichts
 I : Intensität des transmittierten Lichts
 ε : Absorptionskoeffizient
 c : Konzentration
 d : Schichtdicke

Die in dieser Arbeit bestimmten Silbergehalte wurden mit einem Atomabsorptionsspektrometer der Firma Thermo Electron Corporation M-Serie bestimmt.

2.4.5 Elementaranalyse

Die Elementaranalyse (EA) ist eine Methode zur Untersuchung der Zusammensetzung einer Probe in Bezug auf ihren Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffanteil. Bei dieser Analysenmethode handelt es sich um eine Verbrennungsanalyse. Hierbei wird die Probe in einem Oxidationsreaktor unter Sauerstoffatmosphäre bei hohen Temperaturen (800-900 °C) verbrannt. Dabei wird Kohlenstoff zu CO oder CO₂ oxidiert, Wasserstoff reagiert zu Wasser und Stickstoff zu Stickoxiden oder molekularem Stickstoff. Anschließend werden die Verbrennungsprodukte mit Hilfe eines Trägergases über einen heißen Kupferoxidkontakt geleitet, wo das CO quantitativ in CO₂ überführt wird. Gleichzeitig werden die Stickoxide vollständig zu N₂ reduziert. In dem darauf folgenden Wasserkonverter wird das Wasser mit Hilfe von Calciumcarbid in

Acetylen überführt. Im Anschluss daran werden die Verbrennungsgase CO_2 , H_2O und N_2 über eine gaschromatographische Säule getrennt. Mittels eines Wärmeleitfähigkeitsdetektors werden die Bestandteile der Probe quantitativ bestimmt.

Die in dieser Arbeit gezeigten C, H, N-Analysen wurden mit einem Analysator EA 1110 der Firma CE Instruments durchgeführt.

2.4.6 UV/VIS-Spektroskopie

Bei der UV/VIS-Spektroskopie werden Absorptionsspektren von Molekülen im sichtbaren und ultravioletten Bereich des Lichts erstellt. Durch die Absorption von Licht einer bestimmten Wellenlänge werden die Moleküle aufgrund ihrer Wechselwirkung mit den elektromagnetischen Wellen elektronisch angeregt. Durch die Absorption des eingestrahlt Lichts können die funktionellen (chromophoren) Gruppen eines Moleküls qualitativ analysiert werden. Die Anregung der verschiedenen chromophoren Gruppen findet bei charakteristischen Wellenlängen statt. Mit Hilfe einer Kalibrationsreihe über einen definierten Konzentrationsbereich ist es ebenfalls möglich, eine Probe unbekannter Konzentration quantitativ zu analysieren.

Die in dieser Arbeit gezeigten UV/VIS-Spektren wurden mit einem Varian Cary 1 Bio UV-Visible Spectrophotometer aufgenommen.

2.4.7 Dialyse

Die Dialyse ist ein konzentrationsgetriebener Trennprozess, bei dem kleine Moleküle ausgetauscht oder von großen Molekülen getrennt werden. Diese Methode wird beispielsweise häufig angewandt, um Proteine zu reinigen. Die zu reinigende Lösung wird in einen sogenannten Dialyseschlauch gefüllt. Dieser

Theoretische Grundlagen

Schlauch besteht aus einer semipermeablen Membran. Kleine Moleküle wie Ionen können durch die Membran hindurch diffundieren, während größere Moleküle wie Proteine oder Nukleinsäuren die Membran nicht passieren können. Der Dialyseschlauch wird verschlossen und in eine erheblich größere Menge an Wasser oder Pufferlösung gelegt. Die Verunreinigungen (z.B. Ionen) diffundieren in Richtung des Konzentrationsausgleichs und werden dadurch zu großen Teilen aus dem Dialyseschlauch entfernt. Der schematische Ablauf der Dialyse ist in Abbildung 6 dargestellt.

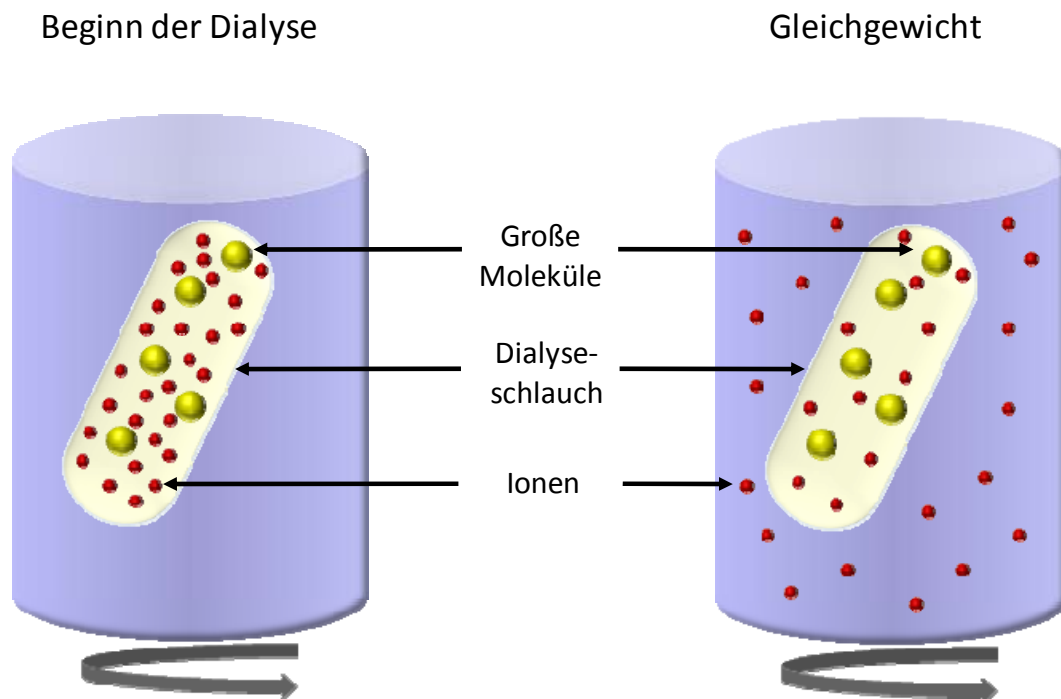


Abbildung 6: Schematische Darstellung einer Dialyse.

Durch mehrmaliges Austauschen der Wasservorlage können so kleine und große Moleküle voneinander getrennt oder gereinigt werden.

3. Experimenteller Teil

3.1 Synthese von Silber-Nanopartikeln

Die Synthese von Silber-Nanopartikeln erfolgt allgemein durch die Reduktion eines Silbersalzes und die anschließende Stabilisierung der entstehenden Partikel. Zur Stabilisierung werden in den meisten Fällen Polymere verwendet. Der schematische Ablauf der Nanopartikelsynthese ist in Abbildung 7 dargestellt. Die Silberionen werden zu Ag^0 reduziert. Die daraus resultierenden Keime wachsen in der sogenannten Wachstumsphase. Das stabilisierende Polymer adsorbiert gleichzeitig an der Oberfläche der wachsenden Partikel und kontrolliert somit den Wachstumsprozess. Durch die Variation der Reaktionsbedingungen wie der Reaktionstemperatur und der Art und Konzentration des Reduktionsmittels sowie der stabilisierenden Moleküle lassen sich Silber-Nanopartikel verschiedener Größe und Form synthetisieren.

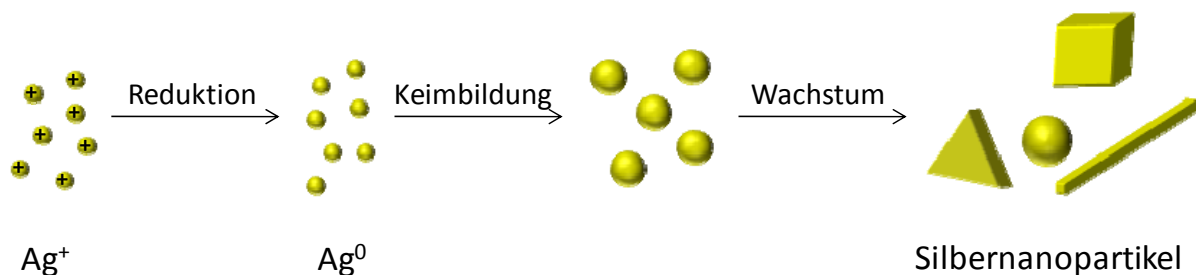


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Synthese von Silber-Nanopartikeln.

3.1.1 Der Polyol-Prozess

Bei dem sogenannten Polyol-Prozess^[121-125] wird das Silbersalz *in situ* durch das Lösemittel reduziert. In dieser Arbeit wurde der Dialkohol Ethylenglykol als Reduktions- und Lösemittel verwendet. Zur Synthese von kugelförmigen Silber-Nanopartikeln wurden 5 mL Ethylenglykol in einem Rundkolben mit

Experimenteller Teil

Rückflusskühler für eine Stunde bei 90 °C erhitzt. Anschließend wurden 3 mL einer Silbernitratlösung (2,5 mM) und 3 mL der Polymerlösung (25 mM) gleichzeitig über eine Peristaltikpumpe mit einer Geschwindigkeit von 0,5 mL min⁻¹ zu dem heißen Ethylenglykol getropft. Die Reaktionslösung wurde nun für weitere 30 Minuten bei 90 °C unter Rühren erhitzt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch mit Hilfe eines Eisbades gekühlt, um eine weitere Reaktion und weiteres Reifen der Silber-Nanopartikel zu verhindern. Die entstandenen Silber-Nanopartikel wurden dann mit Hilfe der Ultrazentrifuge für 30 Minuten bei 66.000 g (30.000 U min⁻¹) abzentrifugiert. Um das überschüssige Ethylenglykol und das überschüssige Polymer von den Partikeln zu entfernen, wurden diese noch einmal mit Aceton und anschließend mit Wasser gewaschen und redispersiert. Als stabilisierendes Polymer wurde bei dieser Synthese Poly(N-vinylpyrrolidon) (PVP) verwendet (Abbildung 8).

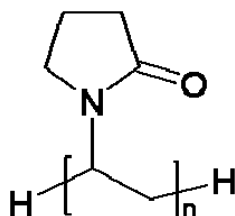


Abbildung 8: Struktur der Monomereinheit von Poly(N-vinylpyrrolidon) (PVP).

Die synthetisierten Silber-Nanopartikel wurden mittels DLS, REM und TEM charakterisiert. Der Silbergehalt der Dispersion wurde mittels AAS bestimmt. Für die Synthese von Silber-Nanowürfeln und Silber-Nanostäbchen wurde die Reaktionstemperatur von 90 °C auf 180 °C erhöht. Gleichzeitig mussten die Konzentrationen der Silbernitrat- und der Polymerlösung variiert werden. 5 mL Ethylenglykol wurden in einem Rundkolben mit Rückflusskühler für eine

Experimenteller Teil

Stunde bei 180 °C erhitzt. Anschließend wurden mittels einer Peristaltikpumpe (Pumpgeschwindigkeit 0,5 mL min⁻¹) die Silbernitrat- und die Polymerlösung gleichzeitig zu dem heißen Ethylenglykol zugetropft. Für die Synthese von Silbernanowürfeln wurden 3 mL (120 mM) Silbernitratlösung und 3 mL (180 mM) PVP-Lösung verwendet. Die Synthese von Silbernanostäbchen erfolgte mit 3 mL (100 mM) Silbernitratlösung und 3 mL (300 mM) Polymerlösung. Die Reaktionsbedingungen für die verschiedenen Formen sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Bedingungen für die Synthese von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln unterschiedlicher Form und Größe.

	PVP	AgNO ₃ / mM	T / °C	t / h
Silber-Nanowürfel (200 nm)	180 mM (3 mL)	120 mM (3 mL)	160	1
Silber-Nanostäbchen (100-5000 nm)	300 mM (3 mL)	100 mM (3 mL)	160	1
Kugelförmige Silber-Nanopartikel (20-50 nm REM; 80-100 nm DLS)	25 mM (3 mL)	2.5 mM (3 mL)	90	1

Die Reinigung und Charakterisierung dieser Silber-Nanopartikel wurde wie für die kugelförmigen Partikel beschrieben durchgeführt.

Um die Abhängigkeit der Synthese von der Temperatur und dem Verhältnis zwischen Polymer und Silbernitrat zu untersuchen, wurden diese Parameter variiert. Dazu wurde die Synthese wie oben beschrieben durchgeführt. Die PVP-Konzentration wurde dabei mit 0,01 g mL⁻¹ konstant gehalten. Die Reaktionstemperatur wurde zwischen 120 °C und 180 °C variiert. Die

Konzentration des eingesetzten Silbernitrats wurde von $0,3 \text{ mg mL}^{-1}$ schrittweise auf 33 mg mL^{-1} erhöht. Die Ergebnisse sind in Kapitel 4.1.1 dargestellt.

3.1.2 Standard-Citrat-Methode

Bei der Standard-Citrat-Methode^[38] wird Silbernitrat durch Trinatriumcitrat-Dihydrat (Abbildung 9) in wässriger Lösung gleichzeitig reduziert und stabilisiert.

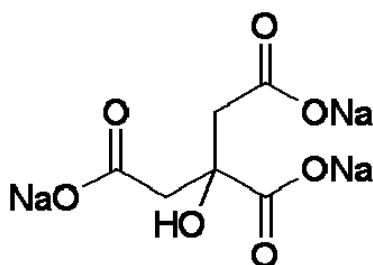


Abbildung 9: Struktur von Trinatriumcitrat.

Dazu wurden 9 mg (0,05 mM) Silbernitratlösung in 50 mL Reinstwasser gelöst und in einem Rundkolben zum Sieden erhitzt. Nach Erreichen des Siedepunkts wurde 1 mL einer 1 %igen Trinatriumcitrat-Dihydrat-Lösung schnell und unter starkem Rühren zu der kochenden Citrat-Lösung gegeben. Diese Reaktionslösung wurde für eine Stunde unter Sieden erhitzt und anschließend unter Rühren bei Raumtemperatur langsam abgekühlt. Zur Reinigung der Partikel wurden diese durch Ultrazentrifugation bei 66.000 g ($30.000 \text{ U min}^{-1}$) abzentrifugiert, einmal mit Wasser gewaschen und wieder redispergiert. Zur Charakterisierung der entstandenen Silber-Nanopartikel wurden diese mittels REM, TEM und DLS untersucht. Mit Hilfe der AAS wurde anschließend der Silbergehalt der Partikel in der Dispersion bestimmt.

3.1.3 Reduktion mit Glukose

Bei dieser Synthese wurden die Silber-Nanopartikel wie bei dem Polyol-Prozess mit PVP stabilisiert. Allerdings fand die Synthese in wässriger Lösung mit Glukose als Reduktionsmittel statt.^[126,127] Da kein störendes Ethylenglykol entfernt werden musste, konnten die Partikel leichter in Wasser redispergiert werden. Dadurch wird die Untersuchung von Silber-Nanopartikeln mit biologischen Tests erheblich erleichtert.

Es wurden 62,5 mg PVP (0,56 mM) und 125 mg Glukose (694 mM) in 5 mL reinstem Wasser gelöst und auf 90 °C erhitzt. Anschließend wurde 1 mL (0,18 mmol) Silbernitratlösung unter heftigem Rühren hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde für eine Stunde bei 90 °C erhitzt und in einem Eisbad abgekühlt, um die Reaktion zu inhibieren. Dann wurden die Partikel mittels Ultrazentrifugation ($30.000 \text{ U min}^{-1}$, 66.000 g) abzentrifugiert, mit Wasser gewaschen und in Wasser redispergiert. Zur Charakterisierung wurden die entstandenen Silber-Nanopartikel mittels DLS, REM und TEM untersucht. Zur Bestimmung des Silbergehalts der Partikel in Dispersion wurde die Silberkonzentration mit AAS bestimmt.

Um die Abhängigkeit der Synthese von der Temperatur und dem Verhältnis zwischen Polymer und Silbernitrat zu untersuchen, wurden diese Parameter variiert. Dazu wurde die Synthese wie oben beschrieben durchgeführt. Als Reaktionstemperatur wurden 80 °C, 90 °C und 100 °C gewählt. Weiter wurde bei einer Reaktionstemperatur von 90 °C die PVP-Konzentration beibehalten, während die Konzentration der eingesetzten Silbernitratlösung halbiert wurde. Die Ergebnisse sind in Kapitel 4.1.3 dargestellt.

3.2 Löslichkeitsuntersuchungen

Zur Untersuchung der Löslichkeit der Silber-Nanopartikel wurden Dialysen durchgeführt. Hierzu wurden PVP-beschichtete Silber-Nanopartikel und Citrat-beschichtete Silber-Nanopartikel synthetisiert. Die PVP-beschichteten Partikel wurden nach dem Polyol-Prozess und durch Reduktion mit Glukose hergestellt. Die Citrat-beschichteten Partikel wurden nach der Standard-Citrat-Methode hergestellt. Nach Bestimmung der Silberkonzentration mittels AAS wurden Dispersionen definierter Konzentrationen hergestellt. 3 - 5 mL jeder Dispersion wurden in einen Dialyseschlauch gefüllt. Dieser wurde in ein Becherglas mit 500 mL Reinstwasser gegeben und dialysiert. Die Bechergläser wurden mit Parafilm verschlossen. In regelmäßigen Abständen wurde eine Probe außerhalb des Dialyseschlauchs genommen und mittels AAS auf ihren Silbergehalt hin untersucht. Zunächst wurde die Methode optimiert. Dazu wurden zunächst zwei verschiedene Dialyseschläuche untersucht. Da bei dieser Konzentrationsbestimmung nur durch den Dialyseschlauch diffundierte Silberionen erfasst werden sollten, wurde die entnommenen Probe vor der AAS-Untersuchung mittels Ultrazentrifugation (66.000 g, 30.000 U min⁻¹) zentrifugiert und anschließend über einen Membranfilter mit einer Porengröße von 20 nm filtriert. Der schematische Aufbau der Silberkonzentrationsbestimmung mittels Dialyse ist in Abbildung 10 dargestellt.

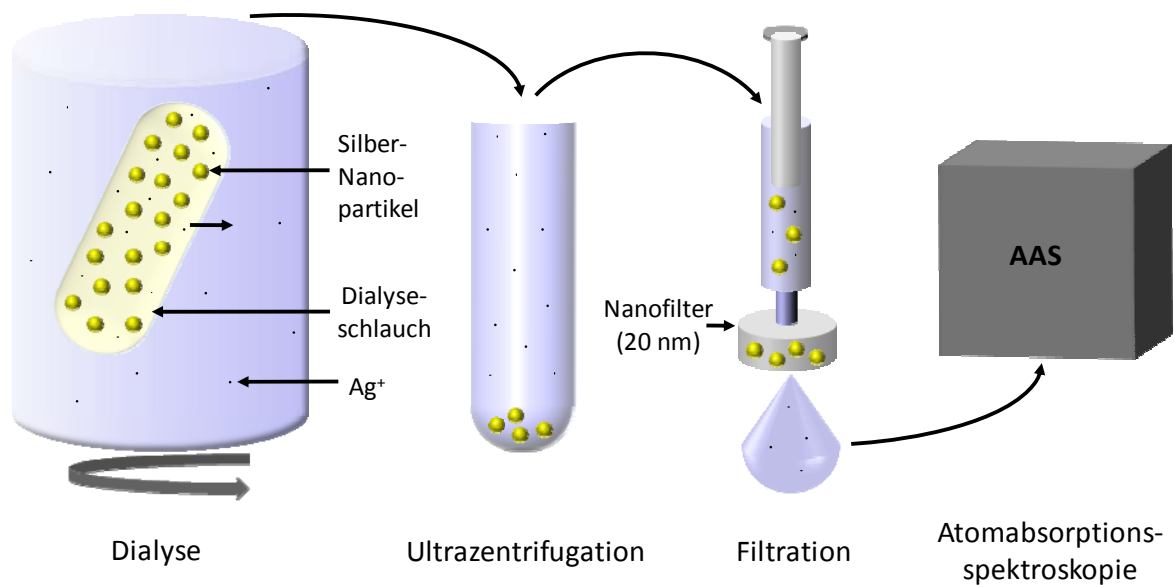


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Dialyseaufbaus zur Untersuchung der Löslichkeit von Silber-Nanopartikeln.

Durch diese Versuchsanordnung sollte gewährleistet werden, dass sämtliche Partikel, die ebenfalls durch den Dialyseschlauch gelangt sein könnten, von den gelösten Silberionen getrennt wurden. Da jedoch die Dialyse allein die gleichen Ergebnisse lieferte, wurden die Schritte Ultrazentrifugation und Filtration bei der Untersuchung der Löslichkeit der verschiedenen Silber-Nanopartikel weggelassen. Alle Versuche zur Löslichkeit wurden zweimal durchgeführt.

3.3 Agglomerationsverhalten

Das Agglomerationsverhalten der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel wurde in verschiedenen biologischen Medien untersucht. Zuerst wurde die Stabilität der Silber-Nanopartikel in Wasser und in Phosphat-gepufferter Salzlösung (*Phosphate buffered saline*, PBS) untersucht. Dazu wurden Citrat- und PVP-stabilisierte Silber-Nanopartikel hergestellt und in Wasser oder PBS dispergiert. Die Silberkonzentration betrug dabei $0,05 \text{ g L}^{-1}$. Die Dispersionen wurden bei

25 °C und 37 °C gelagert. In regelmäßigen Abständen wurde die Größe der Nanopartikel mittels DLS bestimmt.

Weitere Agglomerationsversuche wurden in RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), einem Zellkulturmedium, sowohl in reiner Form als auch mit dem Zusatz von bovinem Serumalbumin (*Bovine serum albumin*, BSA) oder fetalem Kälberserum (*Fetal calf serum*, FCS) durchgeführt. Die PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel wurden mit einer Konzentration von 0,05 g L⁻¹ in RPMI mit verschiedenen Mengen an FCS (1-10 %) bzw. BSA (0,001-10 %) dispergiert. Die Größenverteilung dazu wurde parallel mit DLS nach 20 Minuten und nach 24 Stunden bestimmt.

3.4 Biologische Aktivität

Für die Untersuchung der biologischen Aktivität wurden mesenchymale Stammzellen (*Human mesenchymal stem cells*, hMSC) unter Anwesenheit von Silber-Nanopartikeln und Silberionen unterschiedlicher Konzentrationen bei 37 °C für bis zu sieben Tagen inkubiert. Die hMSCs wurden zuvor in RPMI unter Zusatz von 10 % FCS und L-Glutamin (0,3 g L⁻¹) bei 37 °C, hoher Luftfeuchtigkeit und 5 % CO₂ in einem Inkubator aufgezogen. Anschließend wurden die adhärennten Zellen mit PBS gewaschen und durch die Zugabe von 0,2 mL cm⁻² 0,25% Trypsin/0.1% Ethylendiamintetraessigsäure aus den Zellkulturflaschen gelöst. Die Nanopartikel wurden in einem Konzentrationsbereich von 50 mg L⁻¹ bis 0,5 mg L⁻¹ zu den Zellen gegeben. Bezogen auf die Silbermenge wurden auch Silberacetat-Lösungen in den gleichen Konzentrationen angesetzt.

Zur Analyse der Zellviabilität wurden die Zellen mit den Partikeln bzw. Ionen zusammen für sieben Tage inkubiert, mit RPMI gewaschen und anschließend mit Calcein-Acetoxy-methylester (Calcein-AM) unter Zellkulturbedingungen für

Experimenteller Teil

30 Minuten inkubiert. Die adhärenen Zellen wurden anschließend nochmal mit RPMI gewaschen und mittels Fluoreszenzmikroskopie analysiert. Um die Proliferationsrate der Zellen zu untersuchen, wurde eine AlamarBlue-Lösung zu den Zellkulturen gegeben, für zwei Stunden inkubiert und anschließend die Fluoreszenz mit einem Mikroplatten-Photometer quantitativ analysiert. Zur Untersuchung der Zytokinfreisetzung wurde der Überstand der Zellen, die mit Silberionen bzw. Partikeln für sieben Tage inkubiert wurden, mit ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) analysiert.

Die Zelleexperimente wurden von Frau Dipl.-Biol. Christina Greulich in der Abteilung für Chirurgische Forschung im Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum durchgeführt.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Charakterisierung der Silber-Nanopartikel

4.1.1 Charakterisierung der mit Polyvinylpyrrolidon stabilisierten Silber-Nanopartikel nach dem Polyol-Prozess

Die nach dem Polyol-Prozess synthetisierten PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel wurden in Bezug auf ihre Größenverteilung und ihre Oberflächenladung mittels DLS untersucht. Eine charakteristische Größenverteilung für kleine kugelförmige Partikel ist in Abbildung 11 dargestellt.

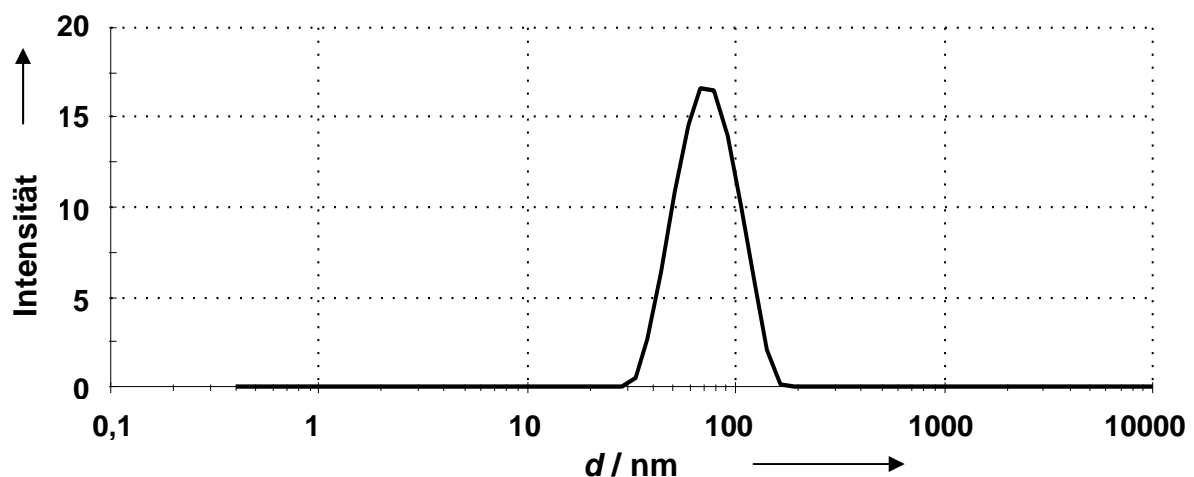


Abbildung 11: Größenverteilung der PVP-stabilisierten, kugelförmigen Silber-Nanopartikel nach DLS.

Die durchschnittliche Größe der Partikel betrug 70 nm. An der Breite der Verteilung ist jedoch erkennbar, dass Partikel von einer Größe mit etwa 35 nm bis 160 nm in der Dispersion vorhanden waren. Der Polydispersitätsindex (PDI), welcher ein Qualitätsfaktor für die Einheitlichkeit der Probe ist, lag für die

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

Messung bei 0,285. Liegt der PDI einer Messung unter 0,3, so kann die gemessene Größenverteilung als aussagekräftig betrachtet werden. Ein PDI von 0,285 ist schon sehr hoch, woraus sich schließen lässt, dass die Größenverteilung der Partikel nicht mehr komplett monodispers ist. Dieser Wert zeigt sich auch in der Verteilungsbreite der Größenmessung, da die Partikelgröße über einen Bereich von 125 nm verteilt ist und dadurch nicht mehr als monodispers bezeichnet werden kann. Das Zetapotential der Partikel betrug -22,6 mV und ist in Abbildung 12 dargestellt.

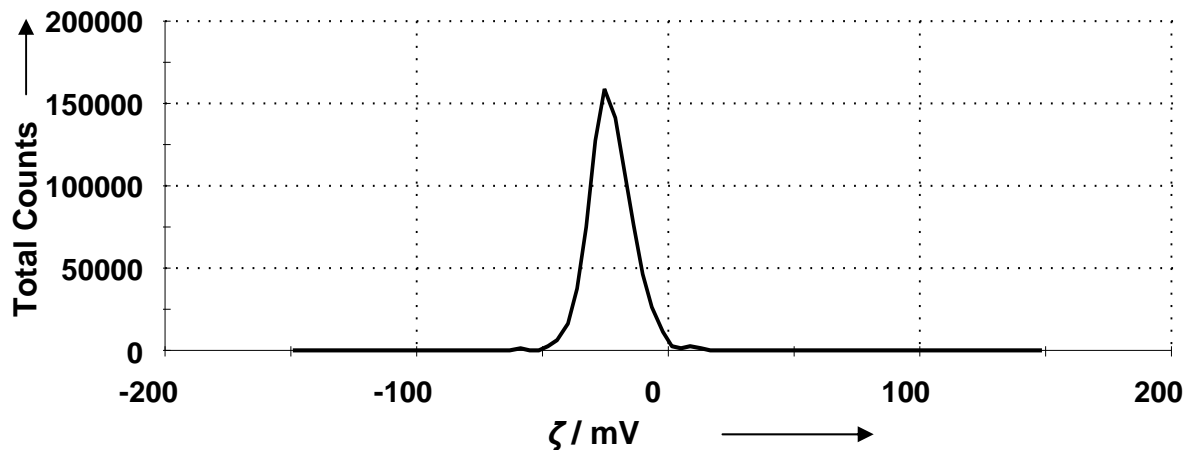


Abbildung 12: Zetapotential der PVP-stabilisierten, kugelförmigen Silber-Nanopartikel nach DLS.

Das gemessene Zetapotential ist charakteristisch für PVP-funktionalisierte Silber-Nanopartikel. Die Zetapotentiale der Partikel nach der Polyol-Synthese lagen alle bei etwa -20 mV. Dies war unerwartet, da PVP ein neutrales Polymer ist und daher ein Zetapotential nahe null zu erwarten gewesen wäre. Eine Dispersion wird als elektrostatisch stabil angesehen, wenn der Betrag des Zetapotentials größer als ± 30 mV ist. Trotz eines Zetapotentials von -20 mV sind die Dispersionen der PVP-funktionalisierten Silber-Nanopartikel über

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

Wochen stabil und zeigen keine Agglomeration. Das deutet auf eine sterische Stabilisierung durch das PVP hin. Selbst in biologischen Medien, die eine große Anzahl an Salzen und Proteinen enthalten, sind diese Partikel über einen längeren Zeitraum stabil. Hierauf wird in Kapitel 4.3 noch näher eingegangen. Abbildung 13 zeigt REM-Aufnahmen der kugelförmigen Silber-Nanopartikel.

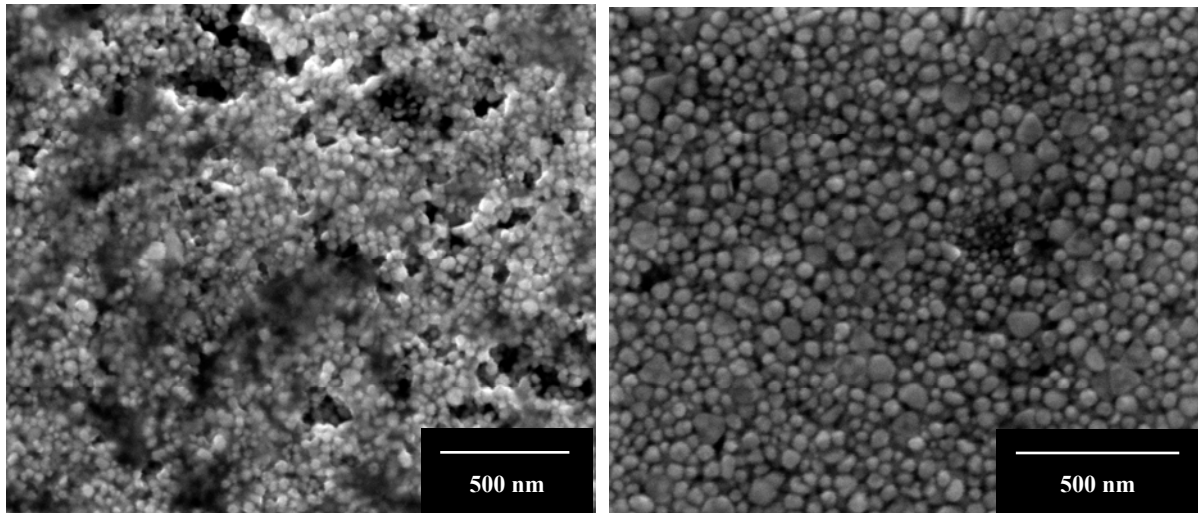


Abbildung 13: REM-Aufnahmen der PVP-stabilisierten, kugelförmigen Silber-Nanopartikel.

Die REM-Aufnahmen zeigen unterschiedliche Bereiche einer Probe kugelförmiger Silber-Nanopartikel. Die linke Abbildung deutet auf eine relativ monodisperse Verteilung sehr kleiner Partikel mit einer durchschnittlichen Größe von etwa 30 nm hin. In der rechten Abbildung sind jedoch auch größere Partikel im Bereich von 80-100 nm erkennbar. Dies stimmt gut mit den Ergebnissen der Dynamischen Lichtstreuung überein. Da große Partikel stärker streuen als kleine, erscheinen diese stärker in der Intensitätsverteilung und dem mittleren Partikeldurchmesser. Zahlenmäßig waren mehr kleine Partikel, wie auch die linke REM-Aufnahme zeigt, in der Probe vorhanden. Dass die Silber-Nanopartikel in den REM-Aufnahmen durchschnittlich etwas kleiner sind als in der Dynamischen Lichtstreuung liegt darin begründet, dass bei der DLS der

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

hydrodynamische Partikeldurchmesser gemessen wird. Dieser ist größer als der tatsächliche Partikeldurchmesser. Außerdem lagen die Partikel in Wasser dispergiert vor, und daher ist davon auszugehen, dass die stabilisierende Polymerhülle in einem gequollenen Zustand vorlag. Für die REM-Aufnahmen wurden die Proben zunächst getrocknet, wodurch die gequollene Polymerschicht in sich zusammengefallen war. Zur weiteren Charakterisierung der Partikel wurden HR-TEM-Aufnahmen angefertigt, welche in Abbildung 14 dargestellt sind.

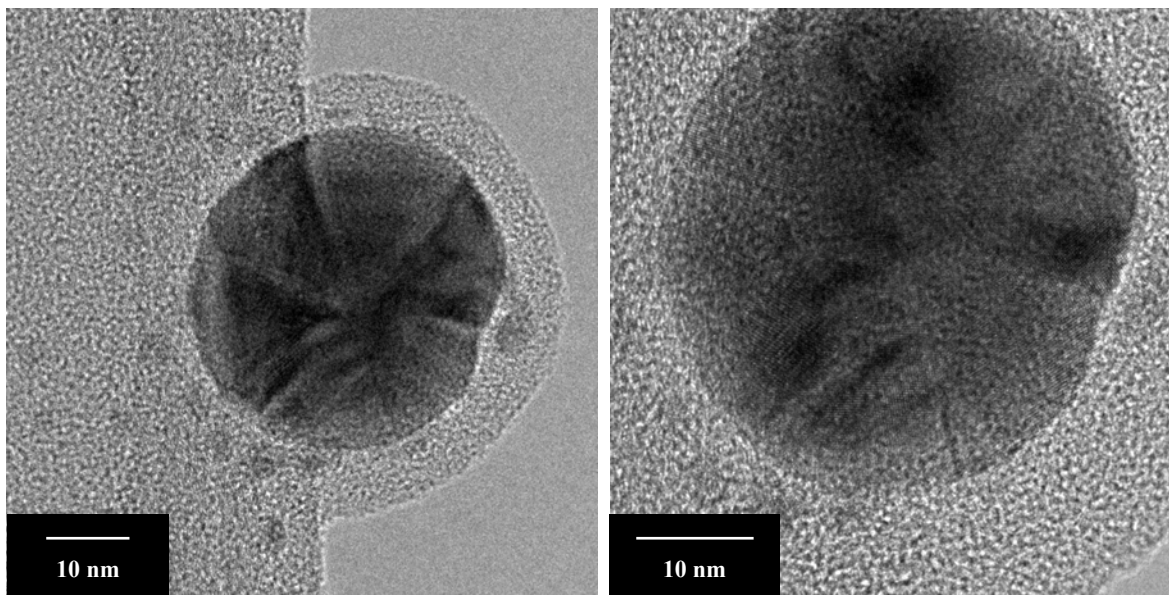


Abbildung 14: HR-TEM-Aufnahmen der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

Hier wurden die Proben wie auch schon im REM vor der Untersuchung getrocknet. Die Silber-Nanopartikel waren in diesen HR-TEM-Aufnahmen etwa 50 nm groß und verzwillingt. Wie Abbildung 14 zeigt, ist hier neben dem Silberkern auch die stabilisierende Polymerhülle der Partikel deutlich erkennbar. Die Größe des Silberkerns betrug etwa 40 nm. Der Silberkern ist von einer 5 nm

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

dicken Schicht umgeben. Mit EELS wurde untersucht, ob es sich bei dieser Schicht um die PVP-Hülle handelt. Dieses Ergebnis konnte jedoch nicht sicher bestätigt werden, da das Kohlenstoff-Signal durch das Substrat gestört wurde, sowie das Stickstoff-Signal von dem Silber-Signal überlagert wird und Sauerstoff immer vorhanden ist. Dass die Schicht um die Partikel jedoch sehr regelmäßig ist, deutet darauf hin, dass es sich hierbei tatsächlich um die Polymerhülle handelt. Außerdem waren alle untersuchten Partikel von der gleichen, regelmäßigen, 5 nm dicken Schicht umgeben. Diese Ergebnisse legen es nahe, dass es sich bei der Schicht um die Polymerhülle des PVP handelt.

Durch Veränderungen der Reaktionsbedingungen können neben kugelförmigen Silber-Nanopartikeln mit dem Polyol-Prozess auch Partikel mit anderen Größen und Formen hergestellt werden. Bei der Synthese der kugelförmigen Silber-Nanopartikel lag das molare Verhältnis von PVP zu Silbernitrat bei 10:1. Eine Erhöhung der Reaktionstemperatur von 90 °C auf 180 °C und eine Erniedrigung des molaren Verhältnisses von PVP zu Silbernitrat auf 3:1 führte zu Silber-Nanostäbchen. Eine REM-Aufnahme der Nanostäbchen ist in Abbildung 15 dargestellt.

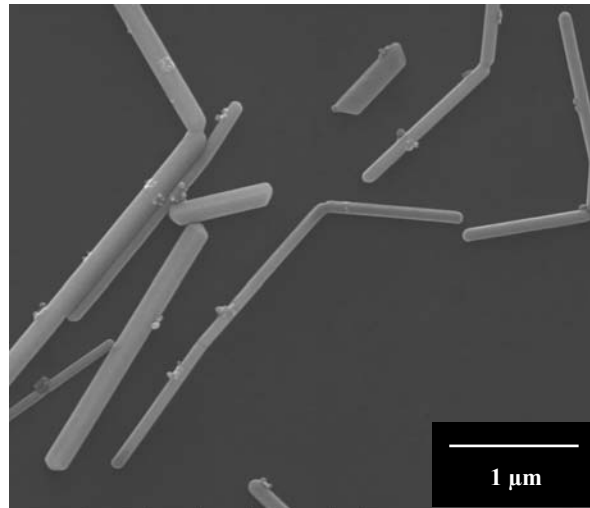


Abbildung 15: REM-Aufnahme der PVP-stabilisierten Silber-Nanostäbchen.

Die Silber-Nanostäbchen zeigten eine Länge von bis zu 5 µm bei einem Durchmesser von etwa 100 nm. Eine weitere Erniedrigung des molaren Verhältnisses von PVP zu Silbernitrat auf 1.5:1 unter ansonsten gleichen Reaktionsbedingungen führte zu Silber-Nanowürfeln. REM-Aufnahmen der Silber-Nanowürfel sind in Abbildung 16 dargestellt.

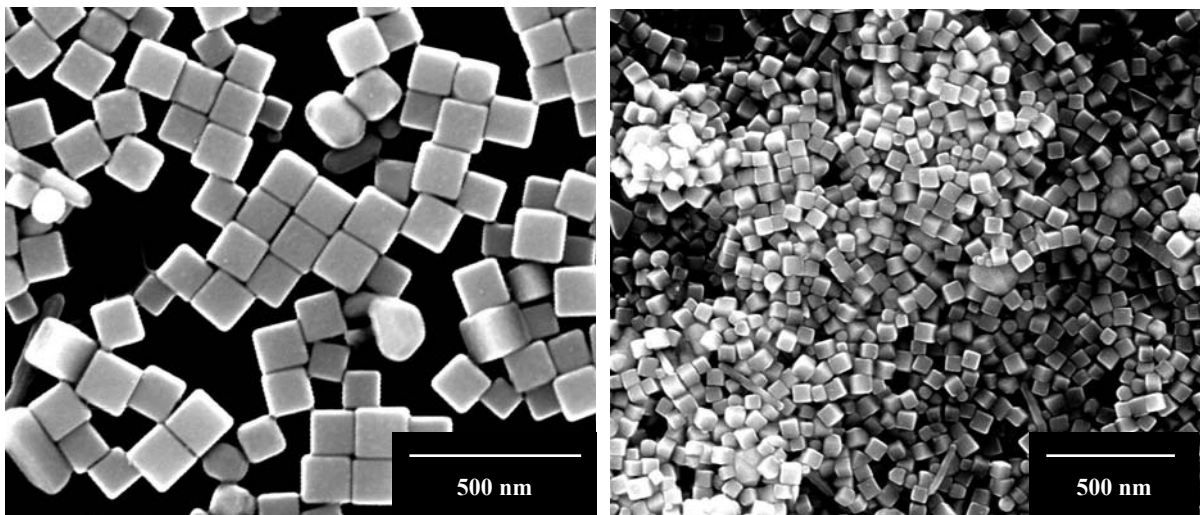


Abbildung 16: REM-Aufnahmen der PVP-stabilisierten Silber-Nanowürfel.

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

Die Nanowürfel zeigten eine durchschnittliche Kantenlänge von 200 nm. Mittels C, H, N-Analyse konnte der Polymeranteil der verschiedenen Silber-Nanopartikel bestimmt werden. Der Anteil an PVP lag bei den kugelförmigen Nanopartikeln bei etwa 7 %. Bei den verschiedenen Ansätzen schwankte der Anteil um ± 1 %. Der Polymeranteil der Silber-Nanowürfel und Silber-Nanostäbchen war deutlich geringer und lag nur bei 1 %.

Durch die Oberflächenplasmonenresonanz der Silber-Nanopartikel absorbieren die Partikel Licht im UV/VIS-Bereich. Die kollektive, longitudinale Anregung der freien Elektronen in einem Metall wird als Plasmaschwingung bezeichnet. Dabei oszillieren die Leitungselektronen gegen die positiv geladenen Atomrümpfe. Das Quant dieser Schwingung ist das Plasmon. Die Oberflächenplasmonen lassen sich mit Licht anregen und breiten sich dann entlang der Metalloberfläche aus. Die Silber-Nanopartikel zeigen daher größen- und formabhängige UV/VIS-Spektren. Die Spektren sind für die PVP-stabilisierten Silber-Nanowürfel, Silber-Nanostäbchen und die kugelförmigen Silber-Nanopartikel in Abbildung 17 gezeigt.

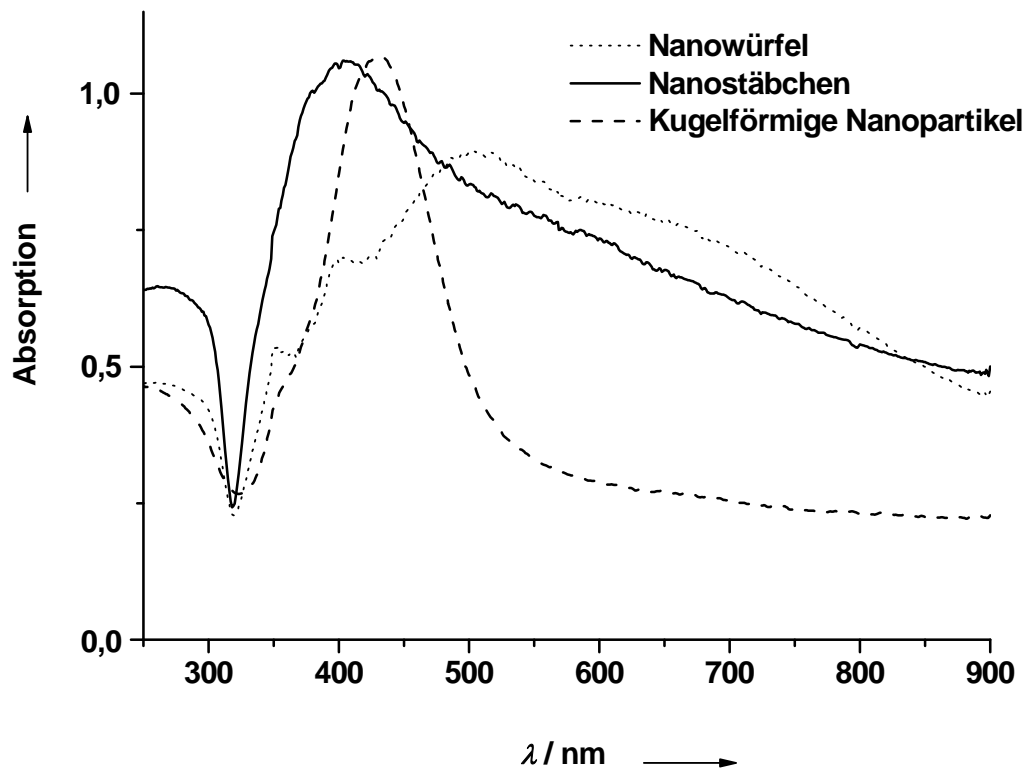


Abbildung 17: UV/VIS-Spektren von PVP-stabilisierten Silber-Nanowürfeln, Silber-Nanostäbchen und kugelförmigen Silber-Nanopartikeln.

Die Nanostäbchen zeigten ein Absorptionsmaximum bei 405 nm. Das Absorptionsmaximum der Nanowürfel lag dagegen bei 503 nm. Beide Spektren zeigten im Vergleich zu den kugelförmigen Nanopartikeln einen sehr breiten Peak. Die kugelförmigen Partikel zeigten eine schmale Verteilung mit einem Absorptionsmaximum bei 431 nm. In der Literatur wurde bezüglich der Oberflächenplasmonenresonanz beschrieben, dass die Absorption bei größeren Partikeln zu höheren Wellenlängen hin verschoben wird.^[74,77] Aufgrund der Oberflächenplasmonenresonanz zeigen auch alle Silber-Nanopartikel-Dispersionen ihre typische gelbliche Färbung.

Wie bis jetzt gezeigt werden konnte, ist es mit Hilfe des Polyol-Prozesses möglich, Silber-Nanopartikel unterschiedlicher Form und Größe durch Variation der Reaktionsbedingungen zu synthetisieren. Um die Abhängigkeit der Synthese

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

von der Reaktionstemperatur und dem molaren Verhältnis zwischen PVP und Silbernitrat zu untersuchen, wurden verschiedene Ansätze unter Variation dieser Parameter durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Zusammenfassung der hydrodynamischen Radien der verschiedenen Reaktionsansätze im Polyol-Prozess bei Einsatz einer 90 mM PVP-Lösung und verschiedenen Reaktionstemperaturen und AgNO₃-Konzentrationen.

AgNO ₃ / mM	120°C		140°C		160°C		180°C	
	Ø / nm	PDI	Ø / nm	PDI	Ø / nm	PDI	Ø / nm	PDI
2	42	0,370	101	0,298	112	0,178	183	0,217
20	47	0,344	87	0,175	114	0,282	110	0,498
40	79	0,279	130	0,238	220	0,255	299	0,209
60	83	0,326	112	0,179	186	0,098	205	0,213
80	114	0,320	118	0,265	245	0,153	313	0,286
100	83	0,323	135	0,289	286	0,329	244	0,225
200	113	0,272	155	0,235	328	0,239	351	0,274

Bei Betrachtung der Ergebnisse sind zwei Trends deutlich erkennbar. Sowohl mit steigender Temperatur als auch mit abnehmendem molarem Verhältnis von Polymer zu Silbernitrat ist ein Anstieg der Partikelgröße erkennbar. Dieser Verlauf ist exemplarisch für drei verschiedene molare Verhältnisse in Abbildung 18 dargestellt.

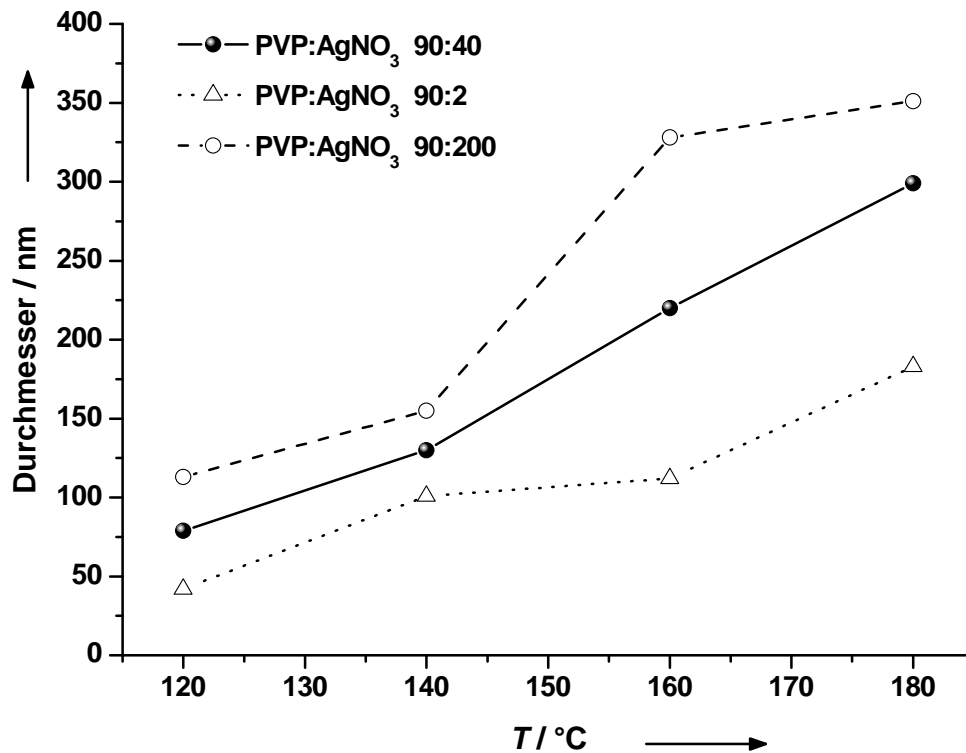


Abbildung 18: Abhängigkeit des Partikeldurchmessers bei gleichbleibendem molarem Verhältnis von PVP zu Silbernitrat und steigender Temperatur.

Bei 120 °C wurden Partikel mit einem Durchmesser von etwa 40 bis 115 nm erhalten, während die Partikel unter den gleichen Bedingungen bei einer Reaktionstemperatur von 180 °C eine Größe von 180 bis 350 nm hatten. Eine weitere Erniedrigung der Temperatur führte zu keiner Veränderung der Partikelgröße. Abbildung 19 zeigt REM-Aufnahmen hierzu.

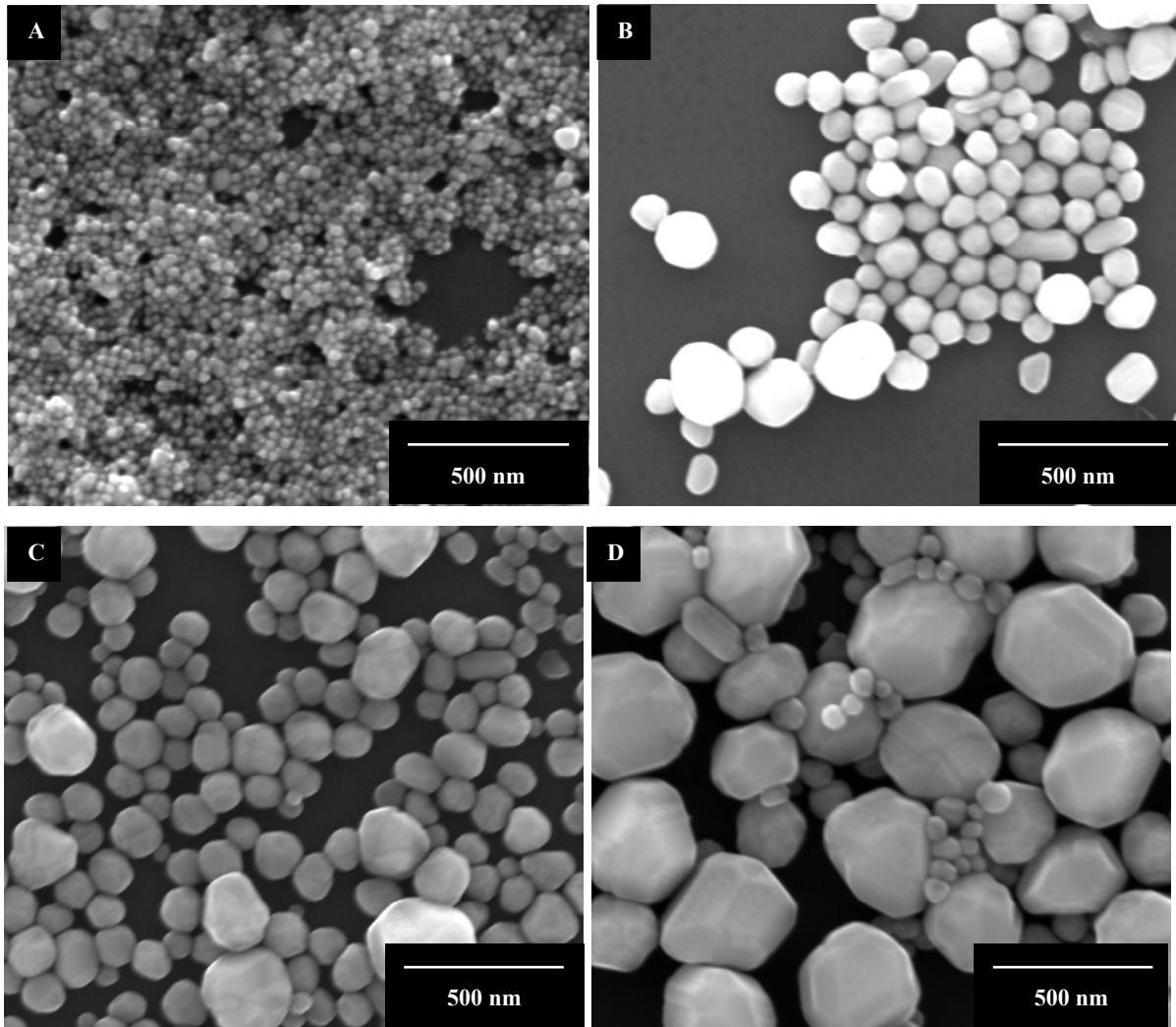


Abbildung 19: REM-Aufnahmen für die Synthese nach dem Polyol-Prozess bei unterschiedlichen molaren Verhältnissen von PVP zu AgNO_3 und Temperaturen. **A)** PVP: AgNO_3 4,5:1; 120 °C, **B)** PVP: AgNO_3 4,5:1; 180 °C, **C)** PVP: AgNO_3 0,45:1; 120 °C, **D)** PVP: AgNO_3 0,45:1; 180 °C.

Die Partikel in Abbildung 19A wurden bei einem Verhältnis von 4,5:1 (PVP: AgNO_3) und einer Reaktionstemperatur von 120 °C hergestellt, während die Silber-Nanopartikel in Abbildung 19B bei 180 °C und dem gleichen PVP zu AgNO_3 -Verhältnis hergestellt wurden. Die Partikel wurden mit der Temperaturerhöhung deutlich größer. Abbildung 19C und 19D zeigen die Partikel bei den Synthesetemperaturen von 120 °C und 180 °C bei einem molaren Verhältnis von PVP zu AgNO_3 von 0,45:1. Auch hier zeigte sich, dass

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

eine Temperaturerhöhung unter ansonsten gleichen Synthesebedingungen zu größeren Partikeln führte. Mit der Größenzunahme nahm allerdings der monodisperse Charakter der Partikel ab. Abbildung 18 kann ebenfalls entnommen werden, dass die Partikel bei einer Erhöhung des Silbergehalts im Vergleich zur Polymermenge ebenfalls größer wurden. Abbildung 19A und 19C zeigen die Partikel, die bei einer Reaktionstemperatur von 120 °C und einem PVP zu AgNO₃-Verhältnis von 4.5:1 bzw. 0.45:1 synthetisiert wurden. Die Partikel bei dem größeren Verhältnis, welches einer geringeren Silbermenge im Vergleich zur Polymermenge entspricht, sind mit 30 nm deutlich kleiner. Eine größere Silbermenge im Vergleich zur Polymermenge führte ebenso wie eine Temperaturerhöhung zu größeren Partikeln. Zusätzlich zeigte sich, dass bei einer Temperaturerhöhung ebenso wie bei einer Erhöhung der Silberkonzentration eine weniger monodisperse Größenverteilung erhalten wurde.

4.1.2 Charakterisierung der mit Citrat stabilisierten Silber-Nanopartikel

Die nach der Citrat-Methode synthetisierten Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel wurden in Bezug auf ihre Größenverteilung und ihre Oberflächenladung mit DLS untersucht. Eine charakteristische Größenverteilung für Citrat-stabilisierte Silber-Nanopartikel ist in Abbildung 20 dargestellt.

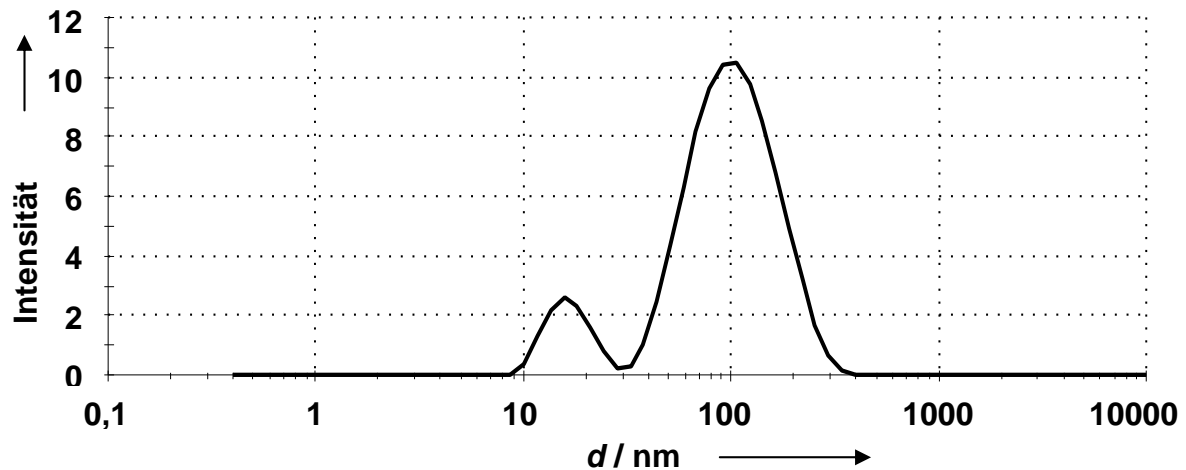


Abbildung 20: Größenverteilung der Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

Die Dynamische Lichtstreuung zeigte eine bimodale Verteilung mit zwei Peaks. Der erste Peak lag bei etwa 15 nm und der zweite bei 100 nm. Der Polydispersitätsindex (PDI), der ein Qualitätsfaktor für die durchschnittliche Größe ist, betrug für diese Messung 0,264. Ein PDI von 0,264 ist zwar hoch, lässt sich aber durch die bimodale Verteilung erklären. Da zwei Peaks in der Größenverteilung vorhanden waren, konnte die Verteilung nicht als monodispers angesehen werden. Daher war ein PDI nahe null nicht zu erwarten. Das Zetapotential der Partikel betrug -27,7 mV (Abbildung 21).

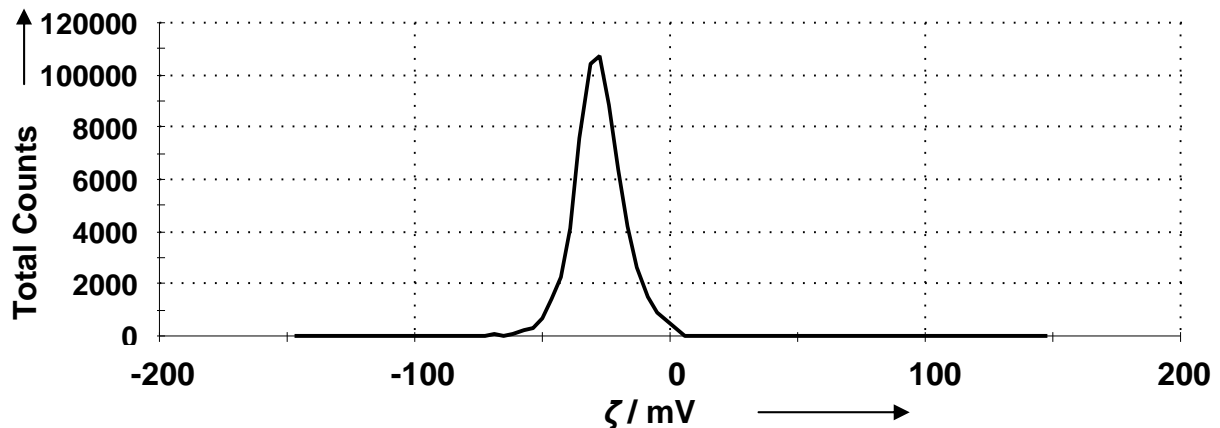


Abbildung 21: Zetapotential der Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

Das abgebildete Zetapotential ist charakteristisch für Citrat-stabilisierte Silber-Nanopartikel. Das Zetapotential der mit Citrat stabilisierten Partikel lag bei etwa -30 mV, variierte jedoch bei unterschiedlichen Ansätzen um ± 10 mV. Aufgrund der negativen Ladung des Citrats war ein negatives Zetapotential auch zu erwarten. Da eine Dispersion als elektrostatisch stabil angesehen wird, wenn der Betrag des Zetapotentials größer als ± 30 mV ist, kann hier von einer weniger stabilen Dispersion ausgegangen werden. Im Vergleich zu den PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln, die nur ein Zetapotential von -20 mV hatten, waren die Citrat-stabilisierten Partikel deutlich weniger stabil. Ein Grund hierfür ist die unterschiedliche Stabilisierungsart. PVP führt zu einer sterischen Stabilisierung, während Citrat die Partikel elektrostatisch stabilisiert. Die Partikel waren nur in sehr niedrigen Konzentrationen dispergierbar. Außerdem ließen sie sich nur einmal zentrifugieren. Danach kam es zur Agglomeration. Abbildung 22 zeigt eine REM-Aufnahme der Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

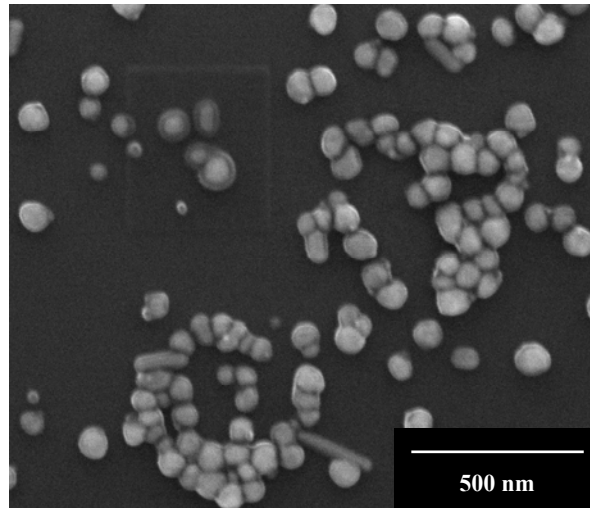


Abbildung 22: REM-Aufnahmen der Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

Der durchschnittliche Partikeldurchmesser beträgt hier etwa 60 nm. Auch einige kleinere Partikel mit einer Größe von 20 nm sind vereinzelt erkennbar. Dies stimmt annähernd mit den Ergebnissen der Dynamischen Lichtstreuung überein. Da große Partikel stärker streuen als kleine, erscheinen diese stärker in der Intensitätsverteilung und dem mittleren Partikeldurchmesser. Zahlenmäßig sollten daher mehr kleine Partikel in der Probe vorhanden sein. Dieses Ergebnis ließ sich mit den REM-Aufnahmen nicht bestätigen. Neben den größeren Partikeln waren auch kleinere vorhanden. Diese waren jedoch deutlich seltener. Dass die Silber-Nanopartikel in den REM-Aufnahmen durchschnittlich etwas kleiner sind als in der Dynamischen Lichtstreuung, liegt daran, dass bei dieser Methode der hydrodynamische Partikeldurchmesser gemessen wird, während im REM die tatsächliche Größe abgebildet wird. Um Informationen zur stabilisierenden Schicht zu erhalten, wurden HR-TEM-Aufnahmen angefertigt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 23 dargestellt.

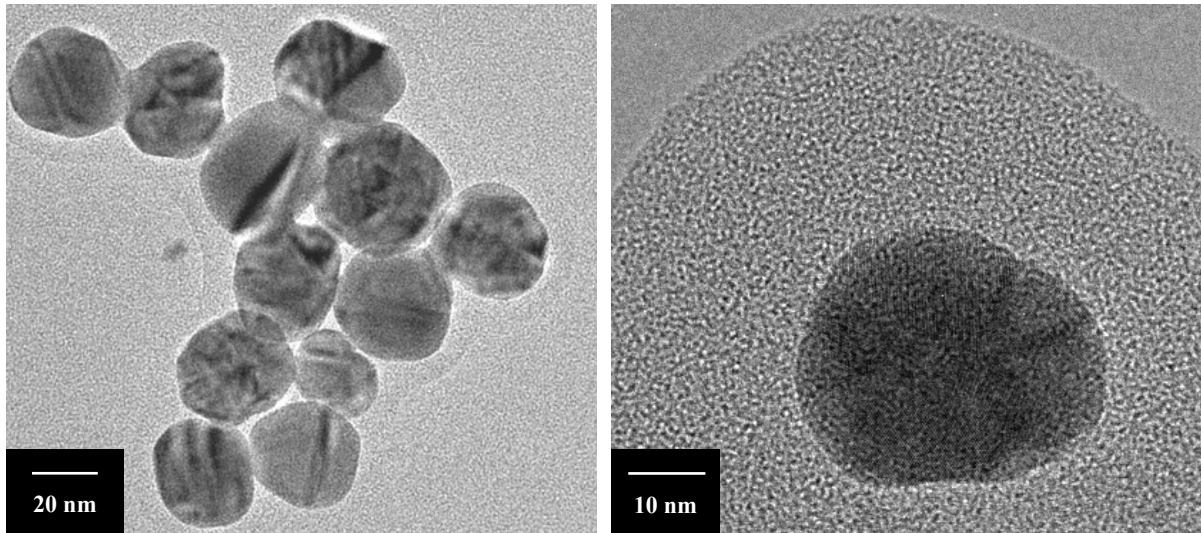


Abbildung 23: HR-TEM-Aufnahmen der Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

Die Silber-Nanopartikel waren in diesen TEM-Aufnahmen etwa 40 nm groß und verzwilligt. Die stabilisierende Citrathülle ist im Vergleich zur PVP-Hülle in Abbildung 14 nicht erkennbar. Dies liegt an der unterschiedlichen Stabilisierungsart der verschiedenen Partikelsysteme. Bei der Schicht um den Silberkern in dem rechten Bild aus Abbildung 23 handelt es sich wahrscheinlich um Kontaminationen durch die Kohlenstoffbeschichtung des TEM-Grids, die bei solchen Messungen häufig beobachtet werden. Um jedoch ganz sicher zu sein, worum es sich bei dieser Schicht handelt, müssten noch weitere Untersuchungen gemacht werden.

Eine analytische Bestimmung des Citratgehalts mittels Elementaranalyse war für die Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel leider nicht möglich, da die Menge an Kohlenstoff und Wasserstoff unter der Nachweisgrenze lag. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die Partikel für die Reinigung und Aufarbeitung zur Elementaranalyse nicht stabil genug waren und kein Citrat mehr vorhanden war.

4.1.3 Charakterisierung der durch Reduktion mit Glukose synthetisierten Polyvinylpyrrolidon-stabilisierten Silber-Nanopartikel

Die durch Reduktion mit Glukose synthetisierten PVP-funktionalisierten Silber-Nanopartikel wurden auf ihre Größenverteilung und ihre Oberflächenladung mit DLS hin untersucht. Eine charakteristische Größenverteilung für kleine kugelförmige Partikel ist in Abbildung 24 dargestellt.

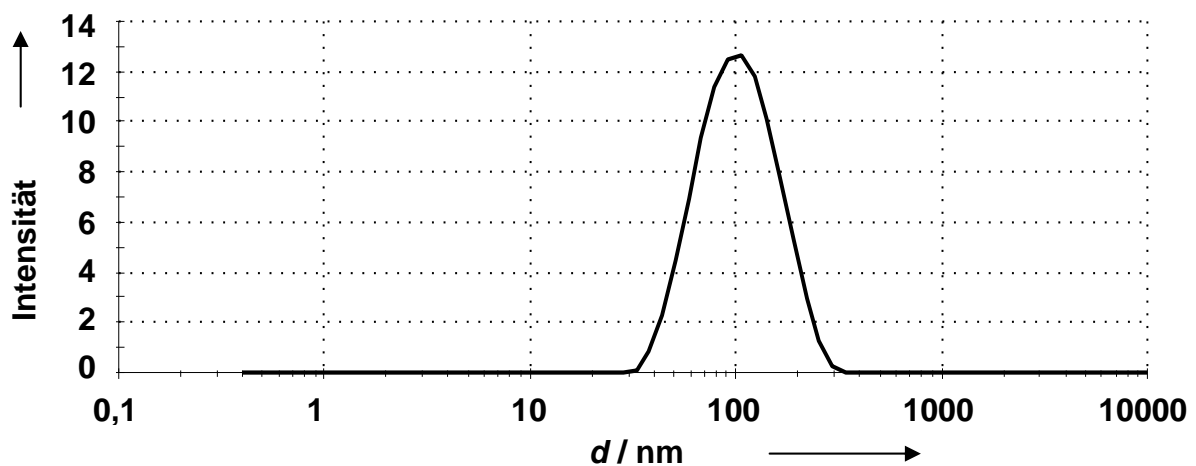


Abbildung 24: Größenverteilung der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

Die durchschnittliche Größe der Partikel beträgt 90 nm. An der Breite der Verteilung ist jedoch erkennbar, dass Partikel mit einer Größe von etwa 35 nm bis 280 nm in der Dispersion vorhanden waren. Der Polydispersitätsindex (PDI) als Qualitätsfaktor für die durchschnittliche Größe lag bei 0,237. Da der PDI unter 0,3 lag, konnte die gemessene Größenverteilung als aussagekräftig betrachtet werden. Der PDI bestätigte sich auch in der Verteilungsbreite der Größenmessung, da die Partikelgröße über einen Bereich von 255 nm verteilt war und dadurch nicht mehr als monodispers bezeichnet werden konnte. Das Zetapotential der Partikel betrug -17,1 mV. Dieses Zetapotential war auch zu erwarten, da bereits für die PVP-stabilisierten Partikel, die im Polyol-Prozess

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

hergestellt wurden, ein Zetapotential von etwa -20 mV gemessen werden konnte (Kapitel 4.1.1). Abbildung 25 zeigt eine REM-Aufnahme der Partikel.

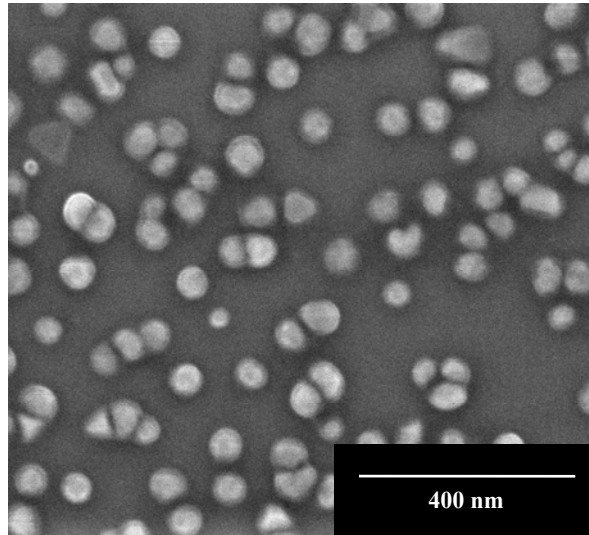


Abbildung 25: REM-Aufnahme der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

In diesem Bild sind die Partikel durchschnittlich 50 nm groß. Auch hier sind die Partikel deutlich kleiner als in der DLS, da die DLS den hydrodynamischen Radius anstatt des tatsächlichen Radius bestimmt. Zur weiteren Charakterisierung der Partikel wurden HR-TEM-Aufnahmen angefertigt. Diese sind in Abbildung 26 dargestellt.

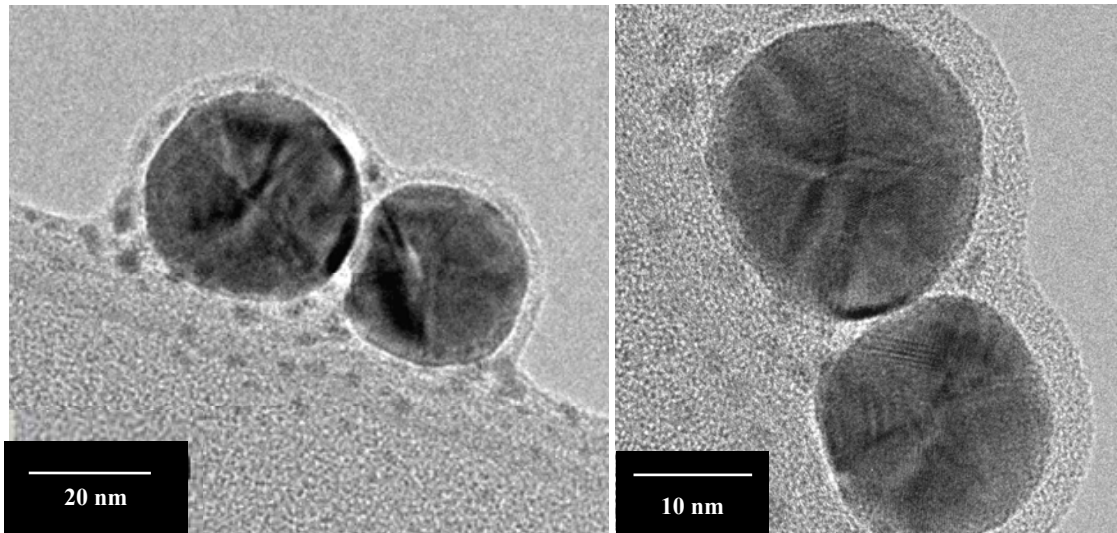


Abbildung 26: HR-TEM-Aufnahmen der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel.

Die Partikel in den HR-TEM-Aufnahmen zeigten noch kleinere Partikel als in Abbildung 25. Auch hier kann der Silberkern mit einer Größe von 20-30 nm deutlich von der vermuteten Polymerhülle unterschieden werden. Im Vergleich zu den PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln, die mit dem Polyol-Prozess hergestellt wurden, ist die Polymerhülle bei diesen Partikeln anstatt 5 nm nur 2,5 nm dick. Dieses Ergebnis wird durch die C, H, N-Analyse unterstützt. Der so für diese Partikel bestimmte PVP-Anteil lag bei ~5 %. Für die Partikel aus dem Polyol-Prozess konnte ein PVP-Anteil von ~7 % bestimmt werden. Da die Partikel in beiden Fälle etwa die gleiche Größe hatten, liegt die Vermutung nahe, dass die Partikel sich lediglich in der Dicke der Polymerschicht unterscheiden.

Zur Optimierung der Synthesebedingungen wurde die Reaktionstemperatur zwischen 80 °C und 100 °C variiert. Die Größenverteilung wurde mittels DLS bestimmt und ist in Abbildung 27 zusammengefasst.

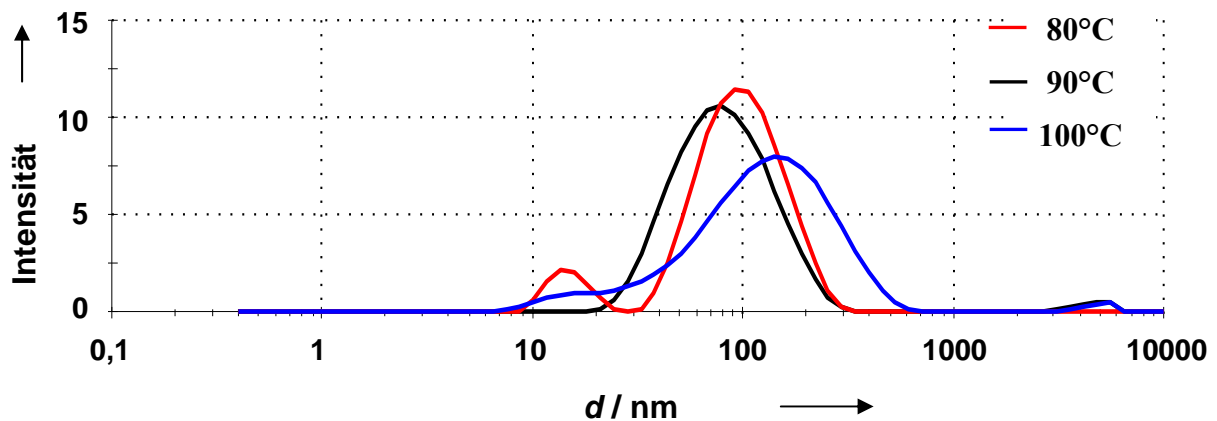


Abbildung 27: Größenverteilung der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel, die durch Reduktion mit Glukose bei verschiedenen Temperaturen synthetisiert wurden.

Die abgebildeten Größenverteilungen zeigen, dass eine Erniedrigung der Reaktionstemperatur von 90 °C auf 80 °C zu einer bimodalen Größenverteilung führte. Eine Erhöhung der Temperatur auf 100 °C hatte dagegen eine breitere Verteilung zur Folge, die zusätzlich zu einer größeren Partikelgröße hin verschoben war. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Tabelle 5: Größe der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel für unterschiedliche Synthesetemperaturen.

T / °C	Größe / nm	PDI
80	71	0,293
90	64	0,290
100	90	0,448

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

Neben der schmalsten Größenverteilung wurden bei einer Temperatur von 90 °C auch die kleinsten Silber-Nanopartikel synthetisiert. Daher wurde die Reaktionstemperatur von 90 °C beibehalten. Unter ansonsten konstanten Reaktionsbedingungen wurde auch die Menge an Silbernitrat halbiert und somit das Verhältnis zwischen PVP und Silber erhöht. Die dabei erhaltenen Nanopartikel zeigten einen hydrodynamischen Radius von 216 nm und waren damit deutlich größer als die Partikel, die mit der ursprünglichen Menge an Silber hergestellt wurden.

4.1.4 Zusammenfassung der Charakterisierung der verschiedenen Silber-Nanopartikel

Der Polyol-Prozess ist eine wichtige Methode zur Herstellung von Silber-Nanopartikeln. Mit dieser Methode wurden PVP-stabilisierte Silber-Nanopartikel unterschiedlicher Form und Größe hergestellt. Neben den kugelförmigen Partikeln mit einer Größe von 50 nm konnten durch Erhöhung der Reaktionstemperatur und Erniedrigung der Polymerkonzentration im Vergleich zur eingesetzten Silbermenge Silber-Nanowürfel und Silber-Nanostäbchen mit Größen von 200 nm und 5 µm hergestellt werden.

Das eingesetzte Polymer PVP besitzt ein Sauerstoffatom, welches sich am stärksten an die {100}-Flächen von Silber bindet.^[123] Das bewirkt eine Anlagerung weiterer Metallatome an andere Kristallflächen. Bei einkristallinen Keimen hat das zur Folge, dass die Metallatome während des Kristallwachstums an den {111}-Flächen adsorbieren, was dann zur Bildung von Nanowürfeln führt.^[128,129] Bei mehrfach verzwilligten Kristallkeimen führt der stabilisierende Effekt von PVP zu Nanostäbchen.^[130] Aufgrund der Änderung der Reaktionsparameter können daher unterschiedliche geformte Silber-Nanopartikel hergestellt werden. Durch die Eigenschaft der

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

Oberflächenplasmonenresonanz von Silber konnten diese verschiedenen Formen auch im UV/VIS-Spektrum analysiert werden. Die erhaltenen Spektren stimmten mit den Literaturdaten überein. Im et al. haben Spektren für Nanowürfel gezeigt, deren Maximum ebenfalls bei 500 nm liegt. Das Maximum wurde in dieser Studie mit zunehmender Kantenlänge größer und die Peaks wurden gleichzeitig breiter.^[33] Die in der Literatur beschriebenen Spektren für Silber-Nanowürfel zeigen ein Maximum bei 400 nm mit einer etwas schmaleren Peakbreite.^[34] Die Literaturdaten für kugelförmige Silber-Nanopartikel haben eine schmale Peakbreite mit einem Absorptionsmaximum bei 420 nm.^[131]

Der ermittelte Polymergehalt (C, H, N-Analyse) betrug bei den kugelförmigen Partikeln etwa 7 %, während bei den Nanowürfeln und Nanostäbchen maximal 1 % Polymer vorhanden waren. Eine Erhöhung der Silbermenge im Vergleich zur Polymermenge und eine Erhöhung der Temperatur unter ansonsten gleichen Synthesebedingungen führten zu größeren Partikeln. Mit zunehmender Größe nahm allerdings auch die Monodispersität der Partikel ab.

Durch die Reduktion von Silbernitrat mit Glukose konnten ebenfalls 50 nm große, kugelförmige, PVP-stabilisierte Silber-Nanopartikel hergestellt werden. Diese unterschieden sich kaum von den Partikeln aus dem Polyol-Prozess. Lediglich der Polymergehalt war mit 5 % etwas geringer. Daraus resultierte eine etwas dünnere Polymerschicht. Die Dicke der Polymerhülle konnte für beide Partikel mittels HR-TEM analysiert werden. Eine Veränderung der Reaktionstemperatur führte bei der Reduktion mit Glukose zu deutlich größeren Partikeln. Auch die Halbierung der Silbermenge im Vergleich zur Polymermenge führte zu deutlich größeren Partikeln.

Neben den PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln wurden auch Citrat-stabilisierte Silber-Nanopartikel hergestellt. Diese waren kugelförmig und hatten eine Größe von etwa 60 nm bei einer bimodalen Verteilung. Die Synthese monodisperser Citrat-stabilsierter Partikel ist nicht einfach, da das Citrat die Silberionen teilweise komplexiert und dadurch das Partikelwachstum stark

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

beeinflusst wird.^[132] Im Vergleich zu den PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln kann für die Citrat-stabilisierten Partikel die Dicke der Citrathülle nicht mittels HR-TEM bestimmt werden, da die Schichtdicke zu schmal ist. In Tabelle 6 sind die Ergebnisse der Silber-Nanopartikel, die mit den verschiedenen Methoden synthetisiert wurden, zusammengefasst.

Tabelle 6: Zusammenfassung der verschiedenen Silber-Nanopartikel, die nach unterschiedlichen Synthesemethoden und in unterschiedlichen Formen, Größe und Ladung hergestellt wurden.

Methode	Größe / nm	Form	ξ-Potential / mV	Polymergehalt / %
Polyol-Prozess	70	Kugel	-23	7
	100-5000	Stäbchen	-18	1
	200	Würfel	-21	1
Citrat-Methode	100	Kugel	-30	–
Reduktion mit Glukose	90	Kugel	-17	5

Problematisch bei der Synthese von Silber-Nanopartikeln war die Reproduzierbarkeit. Unter komplett gleichen Reaktionsbedingungen variierten die erhaltenen Nanopartikel bezüglich ihrer Größe und ihres Zetapotentials. Besonders empfindlich war die Synthese von Nanowürfeln und Nanostäbchen. Schon bei minimalen Abweichungen von den optimierten Syntheseparametern wurden Proben mit gemischten, nicht genau definierbaren Formen erhalten.

In einer Studie von Xiong et al. wurde gezeigt, dass in einer wässrigen Silbernitratlösung die Silberionen nicht nur als Monomereinheiten vorlagen, sondern auch zu größeren Einheiten komplexiert wurden.^[133] Es wurden große Anteile an trimeren Silber-Clustern in wässrigen AgNO₃-Lösungen gefunden,

Ergebnisse und Diskussion - Charakterisierung der Nanopartikel

die mit kommerziell erhältlichen AgNO_3 -Pulvern hergestellt wurden. Diese Cluster hatten einen erheblichen Einfluss auf die Synthese der Nanopartikel. Die Studie zeigt, wie wichtig die Reinheit der Edukte für die Synthese und vor allem auch für die Reproduzierbarkeit ist. Mit einer neuen Charge PVP konnten aus diesem Grund auch keine weiteren Nanowürfel synthetisiert werden. Um dies zu vermeiden, wäre eine vollständige Charakterisierung der in den Ausgangsstoffen vorhandenen Spezies notwendig.

Ein weiteres Problem ist bei der Polyol-Synthese das sogenannte oxidative Ätzen. Dabei werden nullvalente Metallatome beispielsweise durch den Luftsauerstoff über der Reaktionslösung zu Ionen zurückoxidiert. Dadurch ändert sich die Art der Kristallkeime und daraus resultierend auch die Form der synthetisierten Nanopartikel. Diese Studie zeigt ebenfalls, welchen Einfluss Verunreinigungen auf eine formkontrollierte Synthese und deren Reproduzierbarkeit haben. Anhand dieser Ergebnisse ist erkennbar, von wie vielen Faktoren eine kontrollierte Synthese und ihre Reproduzierbarkeit abhängig sind. Die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Silber-Nanopartikel zeigten daher beispielsweise nicht immer exakt die gleiche Größenverteilung, obwohl mit denselben Chemikalien unter gleichen Reaktionsbedingungen gearbeitet wurde. Für die kugelförmigen PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel lag die Größenverteilung der verschiedenen Synthesen nach DLS zwischen 70 und 90 nm.

4.2 Löslichkeitsuntersuchungen an Silber-Nanopartikeln

4.2.1 Diffusion von Silberionen durch Dialysemembranen

Silber-Nanopartikel finden in der heutigen Zeit bereits vielfach Verwendung. Bisher ist nur die antibakterielle Wirkung von Silberionen bekannt. Wie sich jedoch im Vergleich dazu die Silber-Nanopartikel verhalten, wird gerade erst erforscht. Silber-Nanopartikel neigen dazu, sich in Dispersion langsam aufzulösen.^[134] Es entsteht daher mit der Zeit ein Gleichgewicht zwischen den Silber-Nanopartikeln und den gelösten Silberionen. Die Auflösung der Silber-Nanopartikel wurde im Rahmen dieser Arbeit untersucht. Dabei musste zunächst eine geeignete Methode zur Abtrennung der Partikel von den Ionen gefunden werden. Durch einfaches Abzentrifugieren der Partikel mittels Ultrazentrifugation war es nicht möglich, die Partikel komplett von den Ionen zu trennen. Nach der Zentrifugation waren immer noch Partikel in dem Zentrifugat vorhanden, so dass die Ionenkonzentration nicht genau bestimmt werden konnte. Daher wurde als Methode die Dialyse gewählt. Diese Methode musste als erstes optimiert werden. Zunächst musste der richtige Dialyseschlauch für diese Experimente ausgewählt werden. Hierzu wurden zwei Dialyseschläuche aus verschiedenen Materialien untersucht. Der eine Dialyseschlauch bestand aus regenerierter Cellulose mit einer Porengröße von 2 nm, während es sich bei dem anderen Schlauch um einen Celluloseester mit einer Porengröße von 10 nm handelte. In beide Dialyseschläuche wurde eine Silbernitratlösung mit einer Konzentration von 1 g L^{-1} , bezogen auf die Silbermenge, gefüllt und gegen die 100fache Menge an Wasser dialysiert. Das Ergebnis dieser beiden Experimente ist in Abbildung 28 dargestellt.

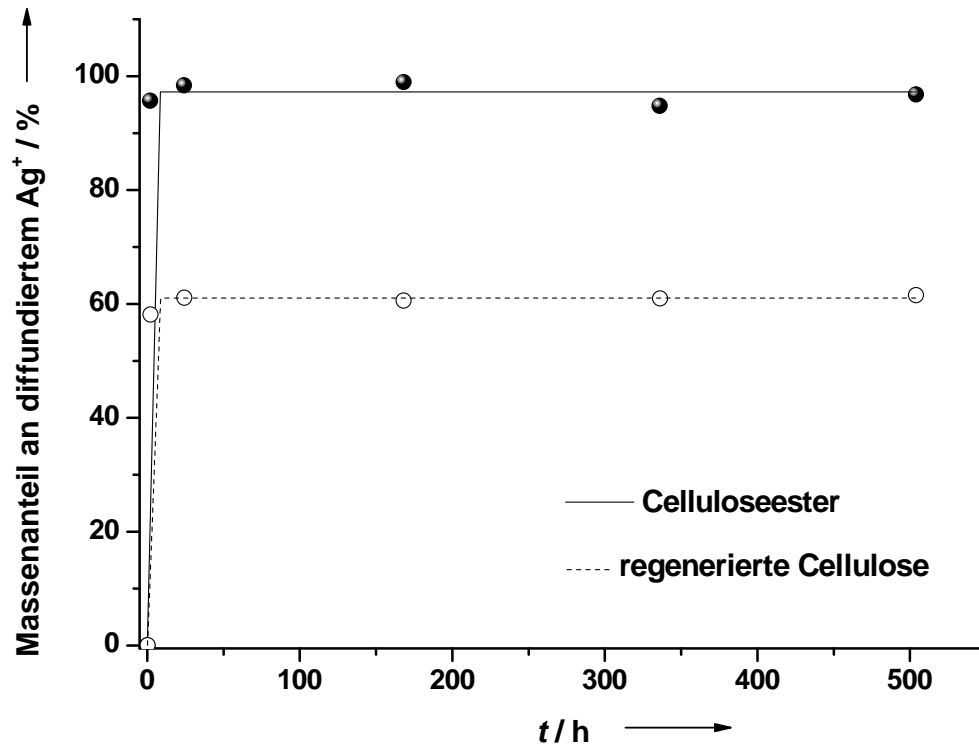


Abbildung 28: Diffusion von Silberionen (als Silbernitrat) ($\beta_{Ag} = 1 \text{ g L}^{-1}$) durch zwei verschiedene Dialysesläuche in Wasser bei 37 °C.

Hierbei wurde die Menge an Silberionen, die außerhalb des Dialyseschlauchs mittels AAS detektiert werden konnte, bezogen auf die Gesamtmenge an Silber, die in dem Dialyseschlauch vorhanden war, gegen die Zeit aufgetragen. Die Porengrößen der Dialysesläuche wurden so gewählt, dass die Silberionen problemlos hindurch diffundieren konnten, die Nanopartikel jedoch zurückgehalten wurden. Es war daher zu erwarten, dass die Ionen komplett durch die Membran diffundieren und sich nach kurzer Zeit eine Gleichgewichtskonzentration einstellte. Da das Wasservolumen um den Faktor 100 größer war als das Volumen in dem Dialyseschlauch, sollten 99 % der eingesetzten Silbermenge am Ende der Dialyse außerhalb des Schlauchs zu finden sein. Abbildung 28 zeigt jedoch, dass dieses Ergebnis nur für den Dialyseschlauch aus Celluloseester erhalten wurde. Hier waren bereits nach 24

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Stunden 99 % der Silberionen durch die Membran diffundiert. Für den Schlauch aus regenerierter Cellulose stellte sich zwar ebenfalls nach 24 Stunden eine Gleichgewichtskonzentration ein, hierbei konnten jedoch nur 60 % der eingesetzten Silbermenge im Dialysat wiedergefunden werden. Der Grund hierfür liegt in dem Material der Dialysemembran. Cellulose besteht aus β -1,4-glykosidisch verbundenen Glukoseeinheiten. Glukose selbst ist ein hervorragendes Reduktionsmittel für Silberionen. Ein bekanntes Beispiel für diese Reaktion ist die sogenannte Tollens-Probe, bei der reduzierende Zucker durch die Bildung eines Silberspiegels nachgewiesen werden.^[135] Die Silberionen können daher auch mit den Membranen reagieren, indem sie zu elementarem Silber reduziert werden. Die Tendenz der Membran aus regenerierter Cellulose, die Silberionen zu reduzieren, scheint größer zu sein als die des Celluloseesters. Ein Hinweis darauf, dass diese Reaktion auch tatsächlich stattgefunden hat, ist, dass sich der Dialyseschlauch aus regenerierter Cellulose nach der Dialyse silbrig-grau verfärbt hatte. Der Dialyseschlauch aus Celluloseester zeigte auch nach Beendigung der Dialyse keine farbliche Veränderung. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde für die folgenden Versuche nur noch der Dialyseschlauch aus Celluloseester verwendet.

Im nächsten Schritt wurde untersucht, wie sich die Silber-Nanopartikel gegenüber dem Dialyseschlauch verhielten. Ein definiertes Volumen der Partikeldispersion wurde in einen Dialyseschlauch gefüllt und gegen die 100fache Menge an Reinstwasser dialysiert. Proben wurden in regelmäßigen Abständen außerhalb des Schlauchs genommen und mittels Atomabsorptionsspektroskopie auf ihren Silbergehalt hin untersucht. Der Dialyseschlauch aus Celluloseester hatte eine Porengröße von 10 nm, wodurch gewährleistet war, dass nur die Ionen den Dialyseschlauch passieren konnten. Die Nanopartikel sollten im Dialyseschlauch verbleiben. Um trotzdem sicher zu gehen, dass keine Partikel durch die Membran des Schlauchs gelangt waren, wurden die genommenen Proben vor der Silberbestimmung noch

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

ultrazentrifugiert (30 Minuten, 66.000 g, 30.000 U min⁻¹) und das Zentrifugat zusätzlich durch einen Anotop 25 Filter mit einer Porengröße von 20 nm filtriert. Für diesen Versuch wurden kugelförmige, PVP-stabilisierte Partikel mit einer Silber-Konzentration von 1 g L⁻¹ verwendet. Die Ergebnisse dieses Experiments sind in Abbildung 29 dargestellt.

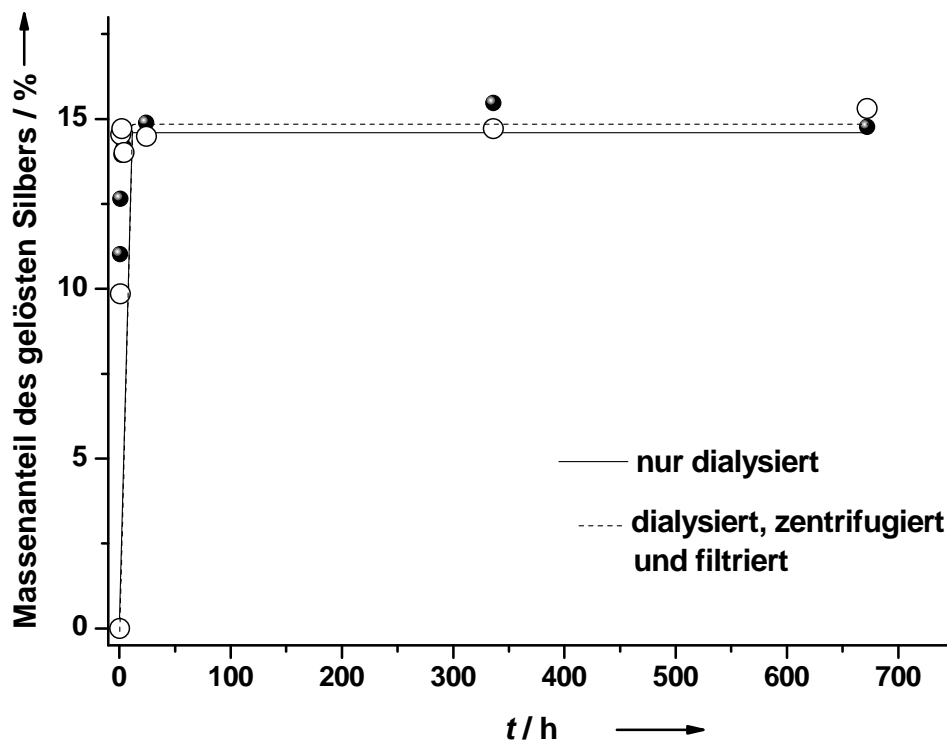


Abbildung 29: Freisetzung von Silberionen aus PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln nach dem Polyol-Prozess ($d = 100$ nm) mit einer Silberkonzentration von $\beta_{Ag} = 1$ g L⁻¹ in Wasser bei 25 °C.

Die Abbildung zeigt, welcher Anteil der eingesetzten Silbermenge in Form von Ionen wieder außerhalb des Schlauchs gefunden wurde. Dabei wurden die Proben zum einen sofort analysiert, und parallel dazu wurde eine Probe vor der Analyse zusätzlich zentrifugiert und filtriert. Abbildung 29 zeigt deutlich, dass es keinen Unterschied zwischen beiden Methoden gab. In beiden Fällen wurden

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

etwa 14-15 % der eingesetzten Silbermenge wiedergefunden. Aufgrund dieses Ergebnisses wurde in den folgenden Versuchen auf die Zentrifugation und die Filtration verzichtet, und das Dialysat wurde direkt nach der Probennahme auf seinen Silbergehalt hin analysiert.

Anhand dieser Ergebnisse wurden anschließend die Löslichkeiten von Partikeldispersionen mit verschiedenen Silbergehalten untersucht. Parallel dazu wurde die Diffusion von Silberionenlösungen mit den gleichen Silbermengen verfolgt. Abbildung 30 zeigt die Diffusion von Silberionen bei einer Temperatur von 25 °C und den Silberkonzentrationen 0,1 g L⁻¹, 0,5 g L⁻¹ und 1 g L⁻¹.

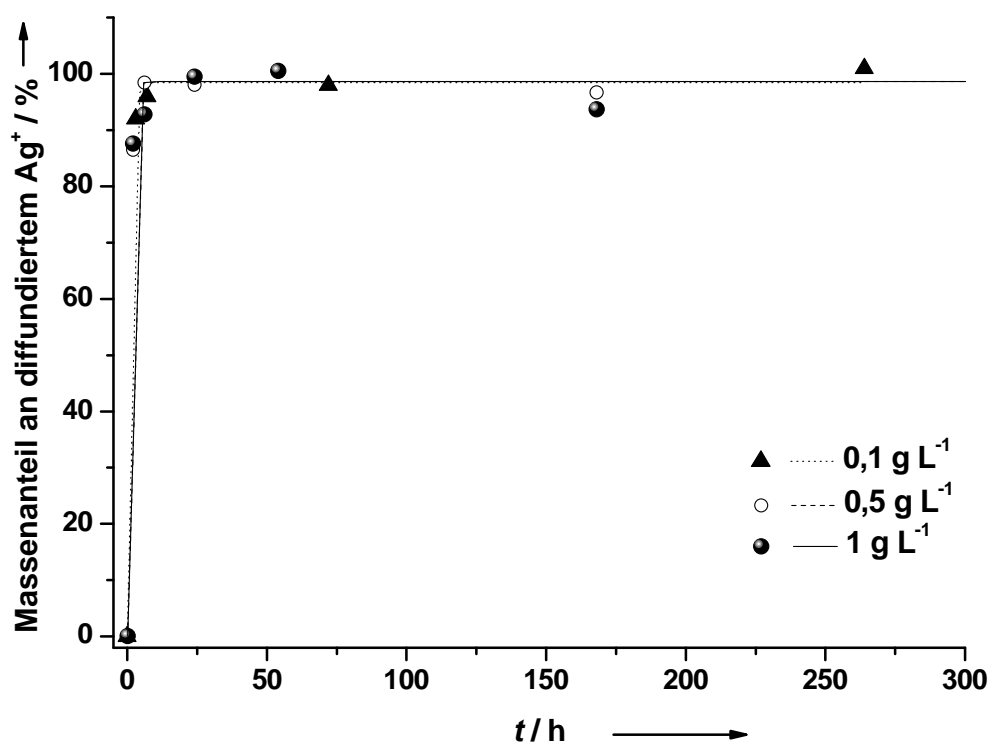


Abbildung 30: Diffusion von Silberionen (aus Silbernitrat) verschiedener Konzentration durch einen Dialyseschlauch aus Celluloseester in Wasser bei 25 °C.

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Wie zu erwarten war, spielte die eingesetzte Konzentration der Silberionen keine große Rolle für die Diffusion. Bei allen untersuchten Silberkonzentrationen konnten nach 24 Stunden fast 100 % der eingesetzten Silbermengen in dem Dialysat wiedergefunden werden. Es lässt sich auch kein Trend hinsichtlich der Diffusionsgeschwindigkeit erkennen, da die Diffusion der Silberionen in allen Fällen unabhängig von der Konzentration gleich schnell erfolgte und bereits nach wenigen Stunden einen Gleichgewichtszustand erreichte. Um die Ergebnisse der Auflösung der Silber-Nanopartikel auch auf spätere Zellexperimente übertragen zu können, wurden die Experimente zur Diffusion auch bei 37 °C durchgeführt. Dies ist die Temperatur, bei der die Zellen unter Zugabe von Nanopartikeln inkubiert werden. Abbildung 31 zeigt die Diffusion der Silberionen bei einer Temperatur von 37 °C.

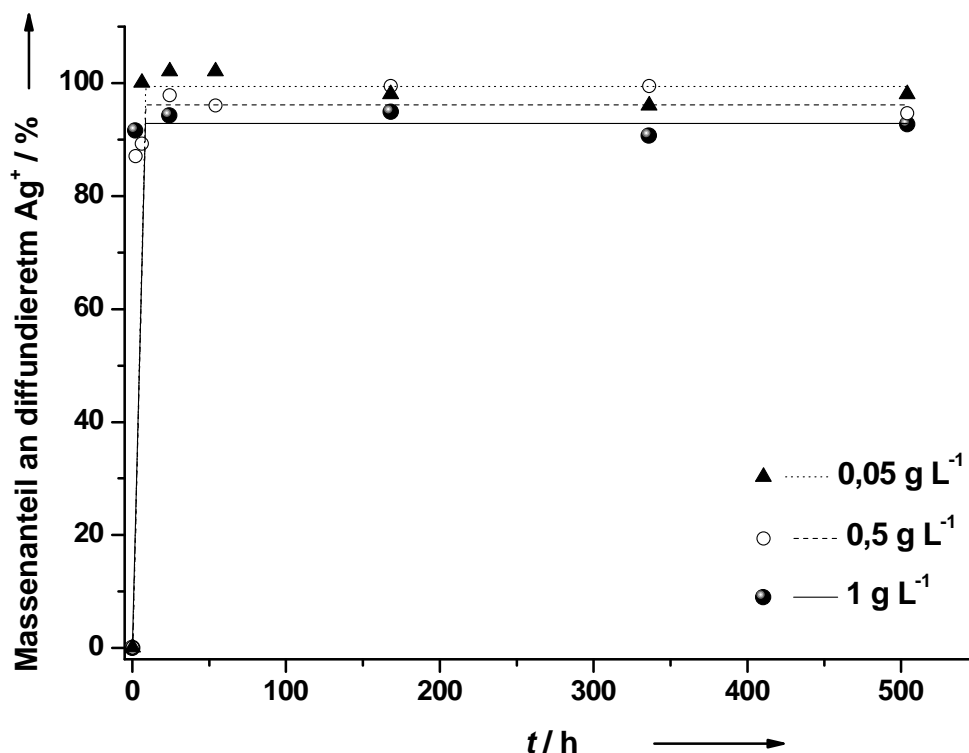


Abbildung 31: Diffusion von Silberionen (als Silbernitrat) verschiedener Konzentrationen durch einen Dialyseschlauch aus Celluloseester in Wasser bei 37 °C.

Die eingesetzten Silberkonzentrationen lagen in dem gleichen Bereich wie schon bei den Experimenten bei 25 °C. Lediglich die niedrigste Konzentration wurde noch etwas herabgesetzt. Aber auch hier konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Konzentrationen festgestellt werden. In allen drei Fällen hatte sich bereits nach wenigen Stunden ein Konzentrationsgleichgewicht eingestellt, und es konnten zwischen 95 % und 100 % der eingesetzten Silbermengen wiedergefunden werden. Diese geringfügigen Abweichungen von den erwarteten 99 % lassen sich mit dem Aufbau der Dialyseexperimente begründen. Die Dialyse wurde in einem Becherglas mit Rührfisch durchgeführt, und die Dialyseschläuche selbst wurden mit Kunststoffklammern verschlossen. An diesen Materialien können die

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Silberionen adsorbieren. Adsorptionsversuche mit einer Silbernitrat-Standardlösung haben gezeigt, dass der Fehler durch die Adsorption der Silberionen bei etwa $\pm 2\%$ liegt. Dadurch kommt es zu Abweichungen von den erwarteten 99 %.

Es lässt sich nun der Diffusionskoeffizient für die Diffusion der Silberionen durch die Dialysemembran bestimmen. Das 1. Ficksche Gesetz besagt, dass die Diffusionsgeschwindigkeit am Ort x zur Zeit t proportional zum Konzentrationsgradienten am Ort x , zum Diffusionskoeffizienten und zur Austauschfläche ist.

$$\frac{dn(x, t)}{dt} = -DA \frac{dc(x, t)}{dx}$$

(Gleichung 5)

D = Diffusionskoeffizient

A = Austauschfläche senkrecht zum Teilchenfluss

$dn(x, t)/dt$ = Diffusionsgeschwindigkeit (Stoffmenge in Mol pro Zeit) am Ort x zur Zeit t

$dc(x, t)/dx$ = Konzentrationsgradient am Ort x zur Zeit t

Wenn eine Komponente auf beiden Seiten einer Membran der Dicke Δx in verschiedenen Konzentrationen vorliegt, so kann der Konzentrationsgradient mit der Näherung, dass die Konzentration außerhalb der Membran gleich Null ist, wie folgt ausgedrückt werden:

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

$$\frac{dc}{dx} = \frac{\Delta c}{\Delta x} = \frac{n_i}{V_i \Delta x}$$

(Gleichung 6)

n_i : Stoffmenge innen

V_i : Volumen innen

Δx : Dicke der Membran

Die Näherung, dass die Konzentration außerhalb der Membran gleich Null ist gilt besonders für kleine t , da das Volumen außen viel größer ist als innen, woraus wiederum folgt, dass die Konzentration außen viel kleiner ist als innen. Das 1. Ficksche Gesetz lautet dann für eine Membran mit der Fläche:

$$\frac{dn_i}{dt} = -DA \frac{n_i}{V_i \Delta x}$$

(Gleichung 7)

Durch Umstellung der Gleichung und anschließender Integration von dn im Bereich n_{i0} bis n_i und von dt im Bereich 0 bis t wird folgende Gleichung erhalten:

$$\ln \frac{n_i}{n_{i0}} = -D \frac{A}{V_i \Delta x} t$$

(Gleichung 8)

Durch die lineare Auftragung von $\ln(n_i/n_{i0})$ gegen die Zeit t kann die Steigung mittels linearer Regression ermittelt werden. Daraus kann schließlich der Diffusionskoeffizient der Silberionen durch die Dialysemembran berechnet werden. Das innere Volumen im Dialyseschlauch (V_i) betrug 5 mL, und der

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Dialyseschlauch hatte eine Dicke von $20\text{ }\mu\text{m}$ (Δx) und eine Fläche von etwa $2,2 \cdot 10^{-3}\text{ m}^2$ (A). Abbildung 32 zeigt exemplarisch den Graphen für die Diffusion von Silberionen mit einer Konzentration von $0,1\text{ g L}^{-1}$ bei $25\text{ }^\circ\text{C}$.

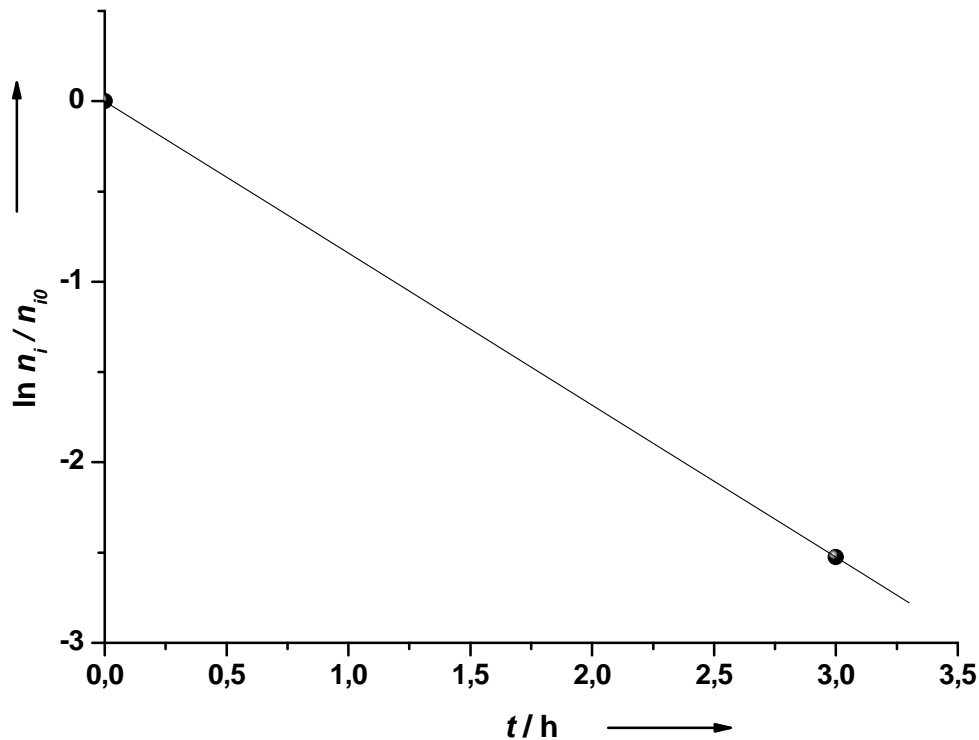


Abbildung 32: Auftragung von $\ln(n_i/n_{i0})$ gegen die Zeit für die Diffusion von Silberionen ($\beta_{Ag} = 0,1\text{ g L}^{-1}$, als Silbernitrat) durch einen Dialyseschlauch aus Celluloseester bei 25°C in Wasser.

Die Bestimmung des Diffusionskoeffizienten nach Gleichung 8 gilt nur, wenn die Konzentration innen größer ist als außen. Wenn 90 % aller Silberionen aus dem Dialyseschlauch herausdiffundiert sind, dann ist das Konzentrationsverhältnis von innen zu außen 10:1. Darüber hinaus gleichen sich die beiden Konzentrationen aneinander immer weiter an. Dadurch werden für die Bestimmung des Diffusionskoeffizienten nur Werte bis zu einer Diffusionsrate von 90 % verwendet. Die Geschwindigkeit der Diffusion wird in

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

der Einstein-Smoluchowski-Gleichung über das mittlere Verschiebungsquadrat bestimmt:

$$x^2 = 2Dt$$

(Gleichung 9)

Aus dieser Gleichung lässt sich die Diffusionszeit $t_{\Delta x}$ eines Teilchens über die Strecke x und daraus auch die Diffusionsgeschwindigkeit $\Delta x/t_{\Delta x}$ berechnen. Die Daten für die Diffusionskoeffizienten und die Diffusionsgeschwindigkeiten für die Diffusion von Silberionen durch den Dialyseschlauch aus Celluloseester bei unterschiedlichen Konzentrationen und Temperaturen sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Tabelle 7: Diffusionskoeffizienten und Diffusionsgeschwindigkeiten für die Diffusion von Silberionen (als Silbernitrat) unterschiedlicher Konzentrationen durch einen Dialyseschlauch aus Celluloseester bei 25 °C und 37 °C in Wasser.

$T / ^\circ\text{C}$	$\beta_{\text{Ag}} / \text{g L}^{-1}$	$y = Bx$ B	$D / \text{m}^2 \text{s}^{-1}$	$t_{\Delta x} / \text{s}$	$\Delta x / t_{\Delta x} / \text{m s}^{-1}$
25	1	$-2,05 \cdot 10^{-4}$ ($\pm 1,04$)	$9,32 \cdot 10^{-12}$	21,46	$9,32 \cdot 10^{-7}$
	0,5	$-1,71 \cdot 10^{-4}$ ($\pm 0,99$)	$7,77 \cdot 10^{-12}$	25,73	$7,77 \cdot 10^{-7}$
	0,1	$-2,05 \cdot 10^{-4}$ ($\pm 0,84$)	$9,32 \cdot 10^{-12}$	21,46	$9,32 \cdot 10^{-7}$
37	1	$-2,05 \cdot 10^{-4}$ ($\pm 1,24$)	$9,32 \cdot 10^{-12}$	21,46	$9,32 \cdot 10^{-7}$
	0,5	$-1,71 \cdot 10^{-4}$ ($\pm 1,02$)	$7,77 \cdot 10^{-12}$	25,73	$7,77 \cdot 10^{-7}$
	0,05	$-1,71 \cdot 10^{-4}$ ($\pm 0,92$)	$7,77 \cdot 10^{-12}$	25,73	$7,77 \cdot 10^{-7}$

Die Diffusionszeit, die von den Silberionen benötigt wird, um durch die Dialysemembran zu diffundieren, liegt bei etwa einer halben Minute. Die dazugehörigen Diffusionskoeffizienten sind mit einer Größenordnung von 10^{-12} sehr klein. Der Literaturwert^[136] für die Diffusion von Ag^+ in Wasser bei 25 °C ist mit $1,648 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{s}^{-1}$ deutlich größer. Dieses Ergebnis war auch zu erwarten, da die Beweglichkeit der Ionen durch die Membran im Vergleich zur reinen Lösung stark eingeschränkt ist. In der Literatur wird beschrieben, dass der Diffusionskoeffizient bei einer Temperaturerhöhung um etwa 2 – 3 % pro °K steigt.^[136] Ein solcher Effekt ist bei der Diffusion durch die Dialysemembran nicht zu erkennen. Die Meßgenauigkeit der Diffusion der Silberionen durch die

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Dialysemembran reicht dazu nicht aus, da dafür zu wenige Punkte bei kleinen t vorhanden sind.

4.2.2 Löslichkeit von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln

Zur Untersuchung der Löslichkeit der Silber-Nanopartikel wurden zunächst verschiedene PVP-stabilisierte Silber-Nanopartikel nach dem Polyol-Prozess hergestellt. Nach der Bestimmung des Silbergehalts in den Dispersionen wurden die Dialyseschläuche mit den Silber-Nanopartikeln einer definierten Silberkonzentration befüllt und gegen die 100fache Menge an Wasser dialysiert. Für diese Versuche wurden Partikelkonzentrationen von $0,35 \text{ g L}^{-1}$, $0,1 \text{ g L}^{-1}$ und $0,05 \text{ g L}^{-1}$ bezogen auf die Menge an Silber verwendet. Es wurde zunächst ein Kontrollexperiment durchgeführt, bei dem Partikel mit einer Konzentration von $0,05 \text{ g L}^{-1}$ für eine Woche in einem Dialyseschlauch aus Celluloseester gegen die 100fache Menge an Wasser bei 25°C und 37°C dialysiert wurden. Anschließend wurde der Silbergehalt innerhalb und außerhalb des Dialyseschlauchs mittels AAS bestimmt. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Wiederfindungsrate PVP-stabilsierter Silber-Nanopartikel ($\beta_{Ag} = 49 \text{ mg L}^{-1}$, $d = 80 \text{ nm}$), die nach dem Polyol-Prozess synthetisiert wurden, nach der Dialyse in Wasser für sieben Tage und einem Dialyseschlauch aus Celluloseester.

	25 °C	37 °C
$\beta_{Ag(\text{gesamt})} / \text{mg L}^{-1}$	48	50
Wiederfindungsrate / %	98	102

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Dabei zeigte sich, dass 100 ± 2 % der eingesetzten Silbermenge wiedergefunden werden konnte. Die Auflösung der Partikel bei 25 °C ist in Abbildung 33 dargestellt.

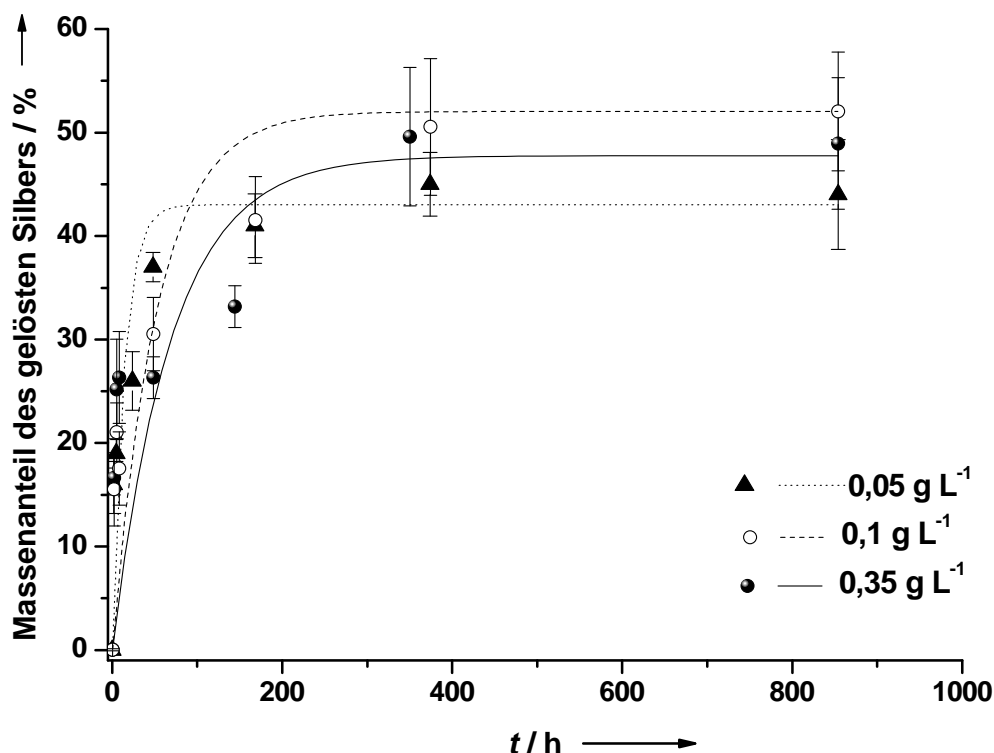


Abbildung 33: Auflösung PVP-stabilisierter Silber-Nanopartikel ($d = 80$ nm), die nach dem Polyol-Prozess synthetisiert wurden, in Wasser bei 25 °C und einem Dialyseschlauch aus Celluloseester.

Aufgetragen wurde hier die Gesamtmenge an Silber im Dialysat bezogen auf die eingesetzte Menge an Silber in Prozent gegen die Zeit. Für alle untersuchten Konzentrationen konnte gezeigt werden, dass sich Silberionen aus den Partikeln herauslösten. Die Auflösung der Nanopartikel erfolgte, bis sich eine Art Gleichgewichtskonzentration eingestellt hatte. Die Gleichgewichtskonzentration stellte sich für die Partikeldispersion mit einer Konzentration von $0,05 \text{ g L}^{-1}$ bei 43 % freigesetztem Silber ein. Diese Konzentration wurde bereits nach 100

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Stunden erreicht. Danach lösten sich keine weiteren Silberionen aus den Partikeln. Bei einer Konzentration von $0,1 \text{ g L}^{-1}$ wurden 52 % der eingesetzten Silbermenge freigesetzt. Hier wurde die Gleichgewichtskonzentration erst nach 300 Stunden erreicht. Aus der Dispersion, die $0,35 \text{ g L}^{-1}$ Silber enthielt, wurden nach 360 Stunden 48 % als Silberionen freigesetzt. Die Ergebnisse zeigen, dass sich in allen Fällen die Partikel so lange auflösten und Silberionen freisetzen, bis beide miteinander in einer Art Gleichgewicht standen, in dem sich die Menge an freigesetzten Silberionen nicht weiter erhöhte. Mit steigender Konzentration der Partikel-Dispersion stieg auch die Zeit, die benötigt wurde, um das Gleichgewicht zwischen Partikeln und Ionen einzustellen. Da die unterschiedlichen eingesetzten Konzentrationen aus verschiedenen Ansätzen stammten, variierte die Größe der verschiedenen Partikel etwas. Um trotzdem die Proben miteinander vergleichen zu können, wurde aus der Silbermenge und der Größe der Partikel die Gesamtoberfläche der Partikel bestimmt. In Tabelle 9 sind die Ergebnisse bezogen auf die gesamte Partikeloberfläche in der Probe und die Zeit, die zur Freisetzung benötigt wurde, zusammengefasst.

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Tabelle 9: Ergebnisse der Auflösung PVP-stabilisierter Silber-Nanopartikel in Wasser bei 25 °C

	Startkonzentration $\beta_{\text{Ag}} / \text{g L}^{-1}$		
	0,05	0,1	0,35
β_{Ag^+} freigesetzt im Gleichgewicht / g L^{-1}	0,022	0,052	0,168
Größe eines Ag-Partikels / nm	93	85	65
Ag-Oberfläche pro L / m^2	0,308	0,675	3,088
ω_{Ag^+} freigesetzt / %	43	52	48
Zeit bis zum Erreichen des Gleichgewichts / h	100	300	360

Mit steigender Konzentration an Silber-Nanopartikeln steigt auch die Gesamtoberfläche. Der pH-Wert von 5 änderte sich dabei nicht. Die Löslichkeit der Silber-Nanopartikel ist abhängig von der Oberfläche der Partikel. Mit der Vergrößerung der Oberfläche steigt auch die gelöste Menge Silber. Interessanterweise sind die Ergebnisse anders als beim Löslichkeitsprodukt, da beim Löslichkeitsprodukt die Ionenkonzentration unabhängig von der Menge an vorhandenem Feststoff ist. Der Wert für $0,35 \text{ g L}^{-1}$ ist allerdings wieder etwas niedriger. Das deutet darauf hin, dass die weitere Vergrößerung der Oberfläche keinen Einfluss hatte, was dann zu einer geringeren Löslichkeit führte. Allerdings unterscheiden sich die Löslichkeiten nur sehr gering und liegen für die untersuchten Konzentrationen in einem Bereich von 43 % bis 52 %. Abbildung 34 zeigt die Größenverteilung während der Dialyse für die Partikelkonzentration von 1 g L^{-1} .

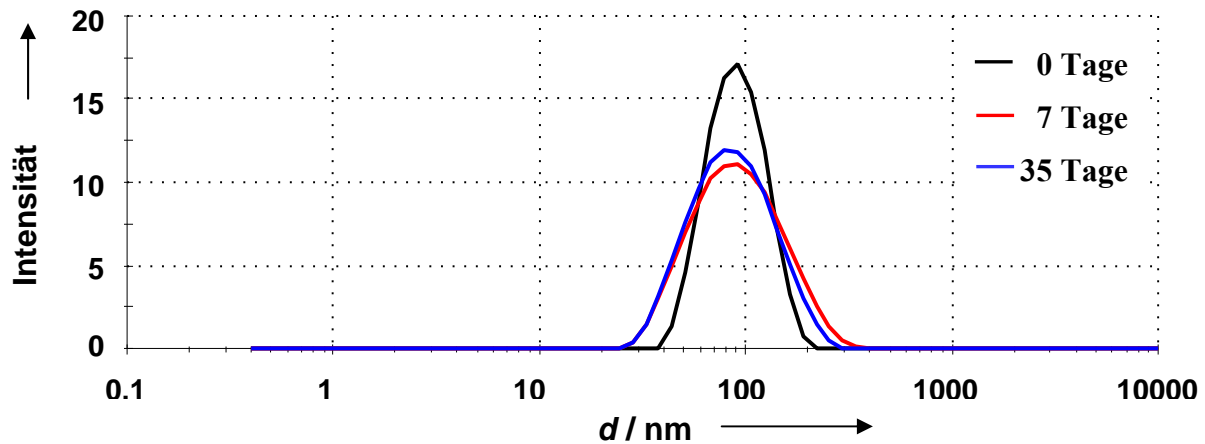


Abbildung 34: Veränderung der Größenverteilung während der Auflösung von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,1 \text{ g L}^{-1}$) in Wasser bei 25 °C.

Es ist deutlich zu erkennen, dass der durchschnittliche Partikel-Durchmesser zwar etwas kleiner wurde, gleichzeitig aber auch die Peakbreite zunahm. Diese Peakverbreiterung zeigte an, dass nun sowohl kleinere als auch größere Nanopartikel in der Dispersion vorhanden waren. Ein Grund hierfür kann sein, dass sich die Partikel nicht gleichmäßig aufgelöst haben. Löst sich aus einem Partikel eine größere Silbermenge als aus einem anderen, so kommt es zu einer unterschiedlichen Größenverteilung. Dies beeinflusst die Größenverteilung am Ende der Dialyse. Die durch die Auflösung bedingte Verkleinerung der Partikel konnte ebenfalls gemessen werden. Abbildung 35 zeigt die hydrodynamischen Radien der Silber-Nanopartikel, die während der Dialyse mit DLS gemessen wurden.

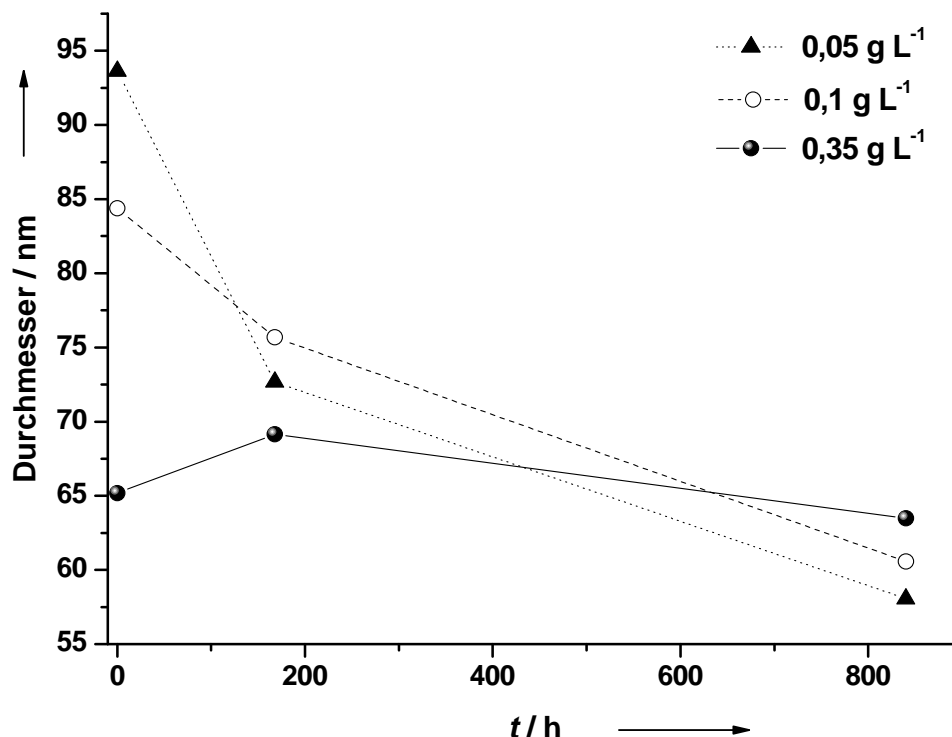


Abbildung 35: Größenveränderung während der Auflösung PVP-stabilsierter Silber-Nanopartikel in Wasser bei 25 °C.

In allen drei Fällen konnte eine Abnahme der durchschnittlichen Partikelgröße beobachtet werden. Neben der Größenverteilung wurde während der Auflösung der Partikel auch die dazugehörige Zählrate, aus der die Größe ermittelt wurde, bestimmt. Diese Streuintensität gibt einen Hinweis darauf, ob die Partikelgröße in der Dispersion steigt, oder ob die Partikel agglomeriert und sedimentiert waren. Anhand dieses Ergebnisses kann dann auch eine Aussage über die relative Anzahl der Partikel in der Dispersion getroffen werden. Die Abhängigkeit der Streuintensität von der Partikelzahl konnte mit Hilfe einer Verdünnungsreihe PVP-stabilsierter Silber-Nanopartikel nachgewiesen werden. Hierzu wurde eine Dispersion mit PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln in einer Konzentration von 0,05 g L⁻¹ angesetzt und bis zu einer Verdünnung von

1:10 in kleinen Schritten mit Wasser verdünnt und gleichzeitig die Streuintensität gemessen. Wie sich die Verdünnung auf die Partikelzahl und die Streuintensität auswirkt ist in Abbildung 36 dargestellt.

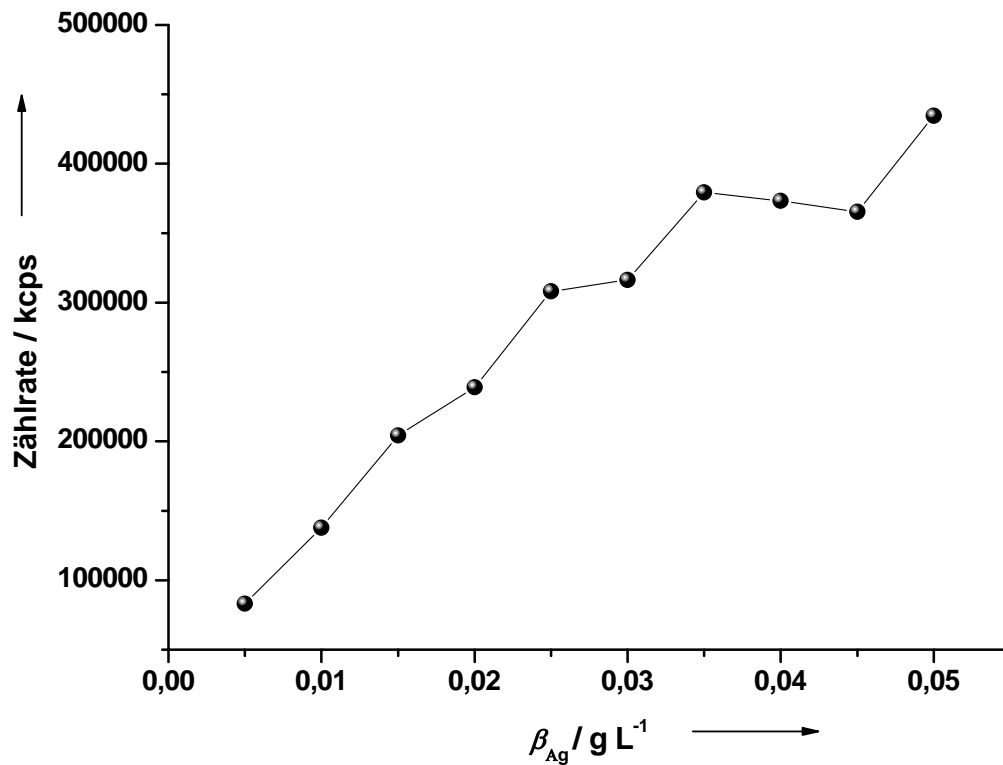


Abbildung 36: Streuintensitäten während der Verdünnung PVP-stabilsierter Silber-Nanopartikel ($d = 90$ nm durch Reduktion mit Glukose) in Wasser bei 25 °C.

Die Abbildung zeigt, dass mit steigender Partikelkonzentration auch die Streuintensität steigt. Damit ist bewiesen, dass die Partikelzahl einer Dispersion aus Silber-Nanopartikeln anhand der Streuintensität abgeschätzt werden kann. Dadurch können die Veränderungen der Partikel während der Auflösung noch genauer charakterisiert werden. Die unterschiedlichen Streuintensitäten für die Veränderungen der Größen während der Auflösung der PVP-stabilisierten Nanopartikel sind in Abbildung 37 dargestellt.

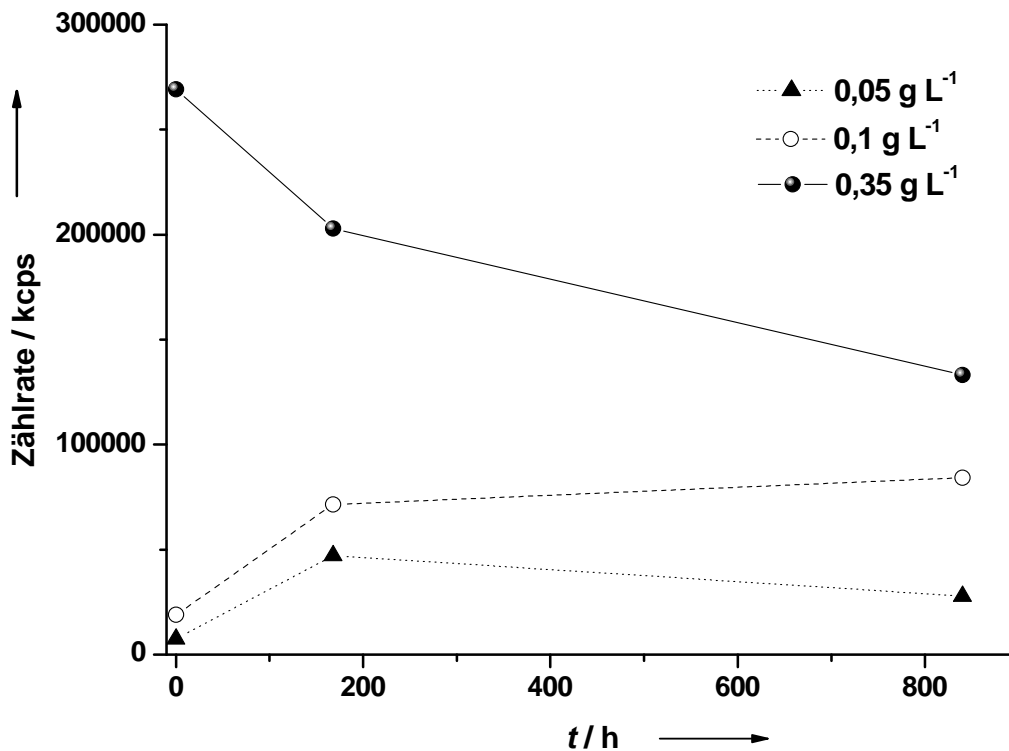


Abbildung 37: Änderung der Streuintensitäten bei der Größenbestimmung der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel während der Dialyse bei 25 °C.

Für die beiden niedrigen Konzentrationen mit $0,05 \text{ g L}^{-1}$ und $0,1 \text{ g L}^{-1}$ stieg die Streuintensität zunächst an und blieb dann konstant. Dieses Ergebnis passt zu den vorherigen Ergebnissen der Dynamischen Lichtstreuung. Die Peaks wurden breiter, da die Partikelgröße nicht mehr streng monodispers war. Gleichzeitig stieg auch die Streuintensität, was ebenfalls auf größere Partikel hindeutet, da große Partikel stärker streuen als kleine. Bei einer Konzentration von $0,35 \text{ g L}^{-1}$ sank die Streuintensität bei etwa gleichbleibender Größe. Dieses Ergebnis bestätigte, dass bereits ein Teil der Partikel sedimentierte und die Dispersion nicht mehr stabil war. Daraus folgt, dass die Berechnung der Oberfläche für diese Konzentration nicht ganz korrekt ist. Bei der Berechnung wurde von monodispersen Partikeln ausgegangen. Durch die Agglomeration wird die gesamte Oberfläche mit zunehmender Agglomeratgröße kleiner. Die

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Agglomerate lösen sich zwar auch auf, wobei aber durch die kleinere Oberfläche eventuell eine geringere Löslichkeit zustande kommt. Ein Partikel mit einem Durchmesser von 100 nm hat eine Oberfläche von $3,14 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2$. Wächst dieser Partikel bis zu einem Durchmesser von 1 μm , so führt dies zu einer Verkleinerung der Oberfläche auf $3,14 \cdot 10^{-14} \text{ m}^2$. Die Vergrößerung des Partikeldurchmessers von 100 nm auf 1 μm führt dadurch zu einer Verkleinerung der Oberfläche um 1 %. Ob die Agglomeration wirklich einen Einfluss auf die geringere Löslichkeit bei einer Konzentration von $0,35 \text{ g L}^{-1}$ hat, ist daher fragwürdig.

Da mit den Silber-Nanopartikeln auch Zelltests durchgeführt wurden, wurde die Löslichkeit der Partikel ebenfalls bei 37 °C untersucht. Dies ist die Temperatur, bei der typischerweise Zellen inkubiert werden. Abbildung 38 zeigt die Löslichkeitskurven für die Silber-Nanopartikel bei 37 °C.

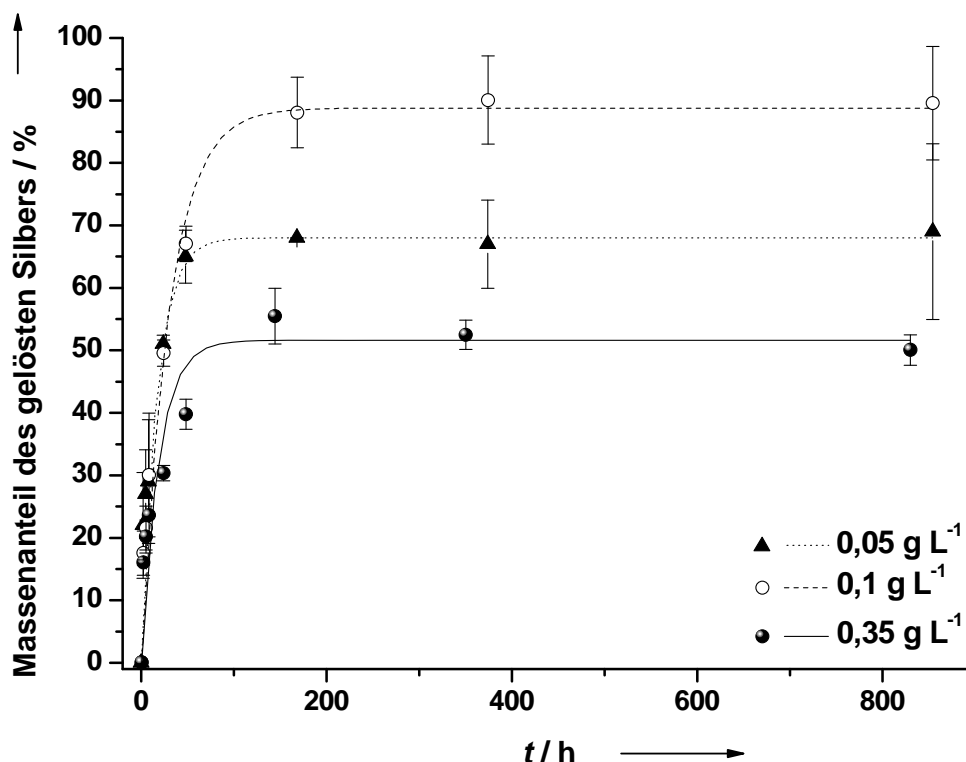


Abbildung 38: Auflösung PVP-stabilisierter Silber-Nanopartikel ($d = 80$ nm), die nach dem Polyol-Prozess synthetisiert wurden, in Wasser bei 37 °C und einem Dialyseschlauch aus Celluloseester.

Wie bei den Löslichkeitsexperimenten bei 25 °C, wurden auch hier Silberkonzentrationen von $0,35$ g L⁻¹, $0,1$ g L⁻¹ und $0,05$ g L⁻¹ eingesetzt. Das Diagramm zeigt, dass die Löslichkeit bei dieser Temperatur deutlich von der eingesetzten Silberkonzentration abhing. Bei einer Konzentration von $0,1$ g L⁻¹ der Silber-Nanopartikel hatten sich fast 90 % des Silbergehalts aus den Partikeln herausgelöst. Die Gleichgewichtskonzentration wurde dabei nach 160 Stunden erreicht. Bei einer Erniedrigung der Konzentration auf $0,05$ g L⁻¹ wurden nur noch 70 % des eingesetzten Silbers in Form von Silberionen wiedergefunden. Das Gleichgewicht wurde hier nach 100 Stunden erreicht. Eine Konzentration von $0,35$ g L⁻¹ führte zu einer Auflösung von 48 % der Silberpartikel in 110 Stunden. Bei diesem Ergebnis ist auffällig, dass zwar die Menge, die sich aus

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

den Partikeln herauslöst, nicht von der Menge bei 25 °C unterscheidet, jedoch ist der relative Anteil, der sich pro Zeiteinheit aus den Partikeln löst, deutlich größer. Um diese Ergebnisse besser vergleichen und deuten zu können, wird später noch die Kinetik der Löslichkeitsexperimente diskutiert. Die Löslichkeitsuntersuchungen bei 25 °C zeigten bereits, dass bei dieser Konzentration ein Teil der Partikel agglomeriert war. Diese Beobachtung konnte auch nach Beendigung der Dialyse bestätigt werden. Die Partikel lagen nicht mehr vollständig dispergiert vor, sondern ein Teil der Partikel befand sich als Bodensatz in dem Dialyseschlauch. Im Vergleich zu den Löslichkeiten bei 25 °C war die Geschwindigkeit, mit der sich ein Gleichgewicht zwischen den Silber-Nanopartikeln und den herausgelösten Silberionen einstellte, unabhängig von der eingesetzten Konzentration. Bei allen untersuchten Konzentrationen erfolgte die Einstellung des Gleichgewichts gleich schnell. In Tabelle 10 ist der Zusammenhang zwischen der Partikeloberfläche und den herausgelösten Silberionen der einzelnen Proben zusammengefasst.

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Tabelle 10: Ergebnisse der Auflösung PVP-stabilisierter Silber-Nanopartikel bei 37 °C.

	Startkonzentration $\beta_{\text{Ag}} / \text{g L}^{-1}$		
	0,05	0,1	0,35
β_{Ag^+} freigesetzt im Gleichgewicht / g L^{-1}	0,034	0,089	0,182
Größe eines Ag-Partikels / nm	93	85	65
Ag-Oberfläche pro L / m^2	0,308	0,675	3,088
ω_{Ag^+} freigesetzt / %	68	89	52
Zeit bis zum Erreichen des Gleichgewichts / h	100	160	110

Hierbei zeigte sich das gleiche Ergebnis, das auch schon aus Abbildung 38 entnommen werden konnte. Bei den niedrigen Partikelkonzentrationen mit $0,05 \text{ g L}^{-1}$ und $0,1 \text{ g L}^{-1}$ stieg die Menge der Silberionen, die sich aus den Partikeln herauslösten, mit der Erhöhung der Partikelkonzentration und der Oberfläche. Wurde jedoch die Konzentration überschritten, bei der die Partikel über den Zeitraum der Experimente hinweg eine stabile Dispersion bildeten, so agglomerierte ein Teil der Partikel. Dieser Effekt war bei einer Konzentration von $0,35 \text{ g L}^{-1}$ deutlich zu erkennen. Hier wurde die geringste Menge an Silberionen freigesetzt. Ein Vergleich mit der Freisetzung für 25 °C in Abbildung 33 zeigte ein ähnliches Ergebnis. Ein Vergleich der Ergebnisse für die beiden unterschiedlichen Temperaturen zeigt jedoch, dass sich bei den niedrigeren Konzentrationen die Menge an freigesetzten Silberionen mit einer Temperaturerhöhung ebenfalls erhöht, während für die Konzentration von $0,35 \text{ g L}^{-1}$ bei beiden Temperaturen ein ähnliches Ergebnis erzielt wurde. Diese Ergebnisse führen zum Schluss, dass die Löslichkeit der Silberionen aus den Silber-Nanopartikeln direkt von der Oberfläche und somit auch von der Größe

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

der Partikel abhängt. Abbildung 39 zeigt die Größenabnahme während der Auflösungsexperimente der Silber-Nanopartikel bei 37 °C.

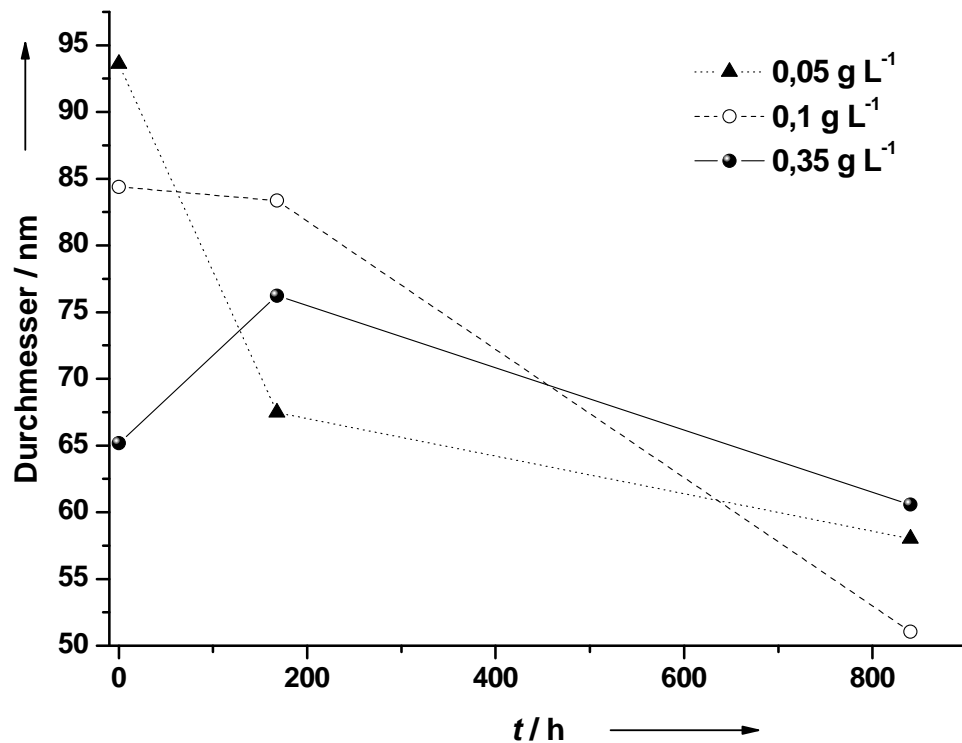


Abbildung 39: Größenveränderung während der Auflösung PVP-stabilisierter Silber-Nanopartikel in Wasser bei 37 °C.

Der Partikeldurchmesser wurde hier, wie schon für 25 °C gezeigt, im Verlauf der Auflösung der Partikel kleiner. Die Größenänderung für die Konzentration 0,35 g L⁻¹ fällt heraus, da die Partikelgröße hier nach sieben Tagen erst angestiegen ist, und dann nach 35 Tagen wieder kleiner wurde. Diese Beobachtung lässt sich unter Betrachtung der vorherigen Ergebnisse erklären. Die anfängliche Größenzunahme zeigt, dass die Partikel bereits nach sieben Tagen angefangen haben zu agglomerieren, oder zum größten Teil schon agglomeriert vorlagen. Abbildung 38 zeigt, dass zu diesem Zeitpunkt bereits die Gleichgewichtskonzentration erreicht war und sich somit die

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Partikelagglomerate am Boden des Dialyseschlauchs abgesetzt hatten. Da die Proben für die Größenbestimmung mit DLS vorsichtig von oben genommen wurden, konnten die Agglomerate in der DLS nicht nachgewiesen werden. Die Abnahme der Größe nach 35 Tagen zeigt, dass zu diesem Zeitpunkt wahrscheinlich nur noch kleinere Partikel in der Dispersion vorlagen und die größeren bereits alle agglomeriert waren. Die Streuintensitäten während der Messungen der Größe sind in Abbildung 40 dargestellt.

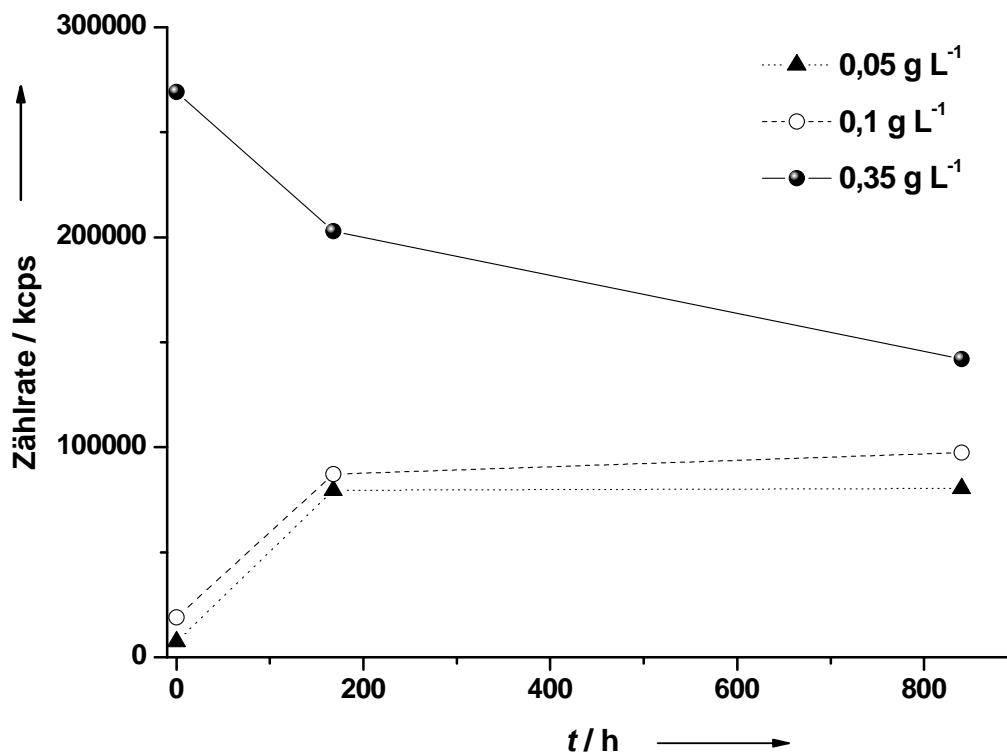


Abbildung 40: Änderung der Streuintensität während der Größenbestimmung der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel während der Dialyse in Wasser bei 37 °C.

Der Verlauf der Streuintensitäten bei 37 °C ähnelt dem Verlauf bei 25 °C. Obwohl die Partikel bei den Löslichkeitsuntersuchungen bei 37 °C deutlich kleiner werden, ändert sich die Streuintensität für die niedrigen Konzentrationen

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

kaum. Durch die Auflösung der Partikel werden diese kleiner. Da die Streuintensität trotzdem konstant bleibt, ist die Dispersion weiterhin stabil und nur ein kleiner Teil der Partikel ist größer geworden. Auch der Verlauf der Streuintensität bestätigt, dass die Partikel bei einer Konzentration von $0,35 \text{ g L}^{-1}$ agglomerierten und gleichzeitig sedimentierten, da weniger Partikel bei der Größenbestimmung vorhanden waren. In Abbildung 41 sind exemplarisch die Größenverteilungen während der Auflösung von Partikeln in einer Dispersion mit $0,1 \text{ g L}^{-1}$ Silberanteil bei 37°C dargestellt.

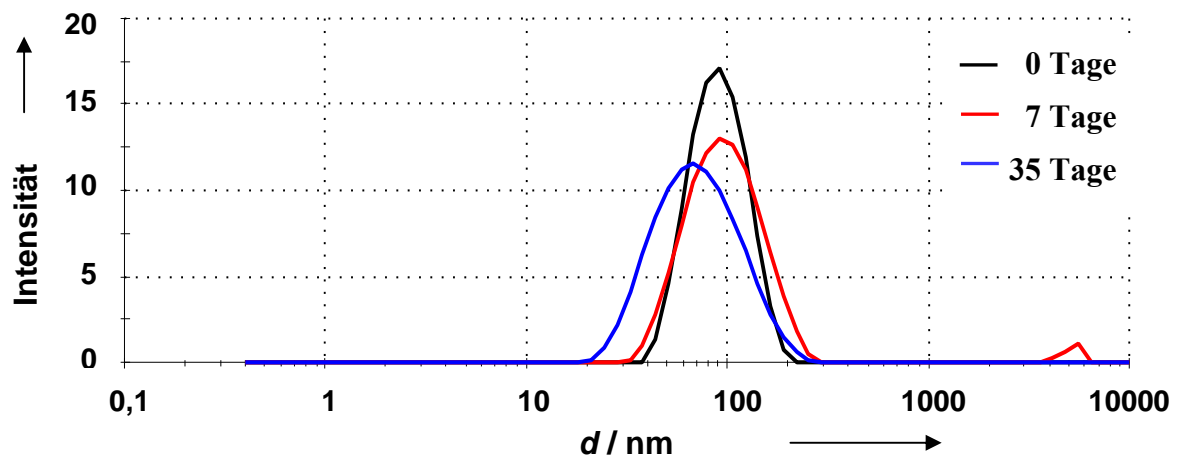


Abbildung 41: Veränderung der Größenverteilung während der Auflösung von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,1 \text{ g L}^{-1}$) in Wasser bei 37°C .

Die Größe der Partikel verkleinert sich von 85 nm auf 51 nm. Bei der Auflösung dieser Partikel lösten sich 89 % des Silbers aus den Partikeln heraus. Daraus ergibt sich theoretisch eine Verkleinerung der Partikel auf 41 nm. Die Größenverteilungen sehen ähnlich aus wie die für 25°C gezeigten. Die Partikel werden zwar bei dieser Temperatur etwas kleiner als bei 25°C , allerdings ist auch hier eine deutliche Verbreiterung der Peaks zu erkennen. Die Partikel lösen sich zwar auf und werden kleiner, dies geschieht jedoch ungleichmäßig auf die Partikel verteilt, und gleichzeitig kommt es mit der Zeit zur Agglomeration der

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Partikel. Daraus resultiert, dass die Partikelgröße weiter gestreut ist und somit auch die Dispersität im Verlauf der Auflösung immer weiter zunimmt. Diese Annahme stimmt mit dem Ergebnis der Streuintensitäten überein, da hier bereits vermutet wurde, dass neben den kleiner werdenden Partikeln auch etwas größere Partikel am Ende der Löslichkeitsuntersuchungen in der Dispersion vorhanden waren.

Mit diesen Versuchen konnte gezeigt werden, dass sich die Silber-Nanopartikel mit der Zeit auflösen und sich dann ein Gleichgewicht zwischen den freigesetzten Silberionen und den Nanopartikeln einstellt. Diese Löslichkeit hängt sowohl von der Temperatur als auch von der eingesetzten Silberkonzentration ab. Die Änderung der gesamten Oberfläche der Partikel in der Dispersion bei unterschiedlichen Konzentrationen ist dabei ausschlaggebend. Mit zunehmender Oberfläche steigt auch die Löslichkeit der Partikel. Dieser Effekt gilt allerdings nur für stabile Dispersionen. Wird die Partikelkonzentration so hoch gewählt, dass die Dispersion nicht mehr über einen längeren Zeitraum stabil ist, so agglomerieren die Partikel, d.h. die spezifische Oberfläche wird kleiner und die Löslichkeit sinkt. Es ist jedoch unklar, ob die sinkende Löslichkeit tatsächlich mit der kleiner werdenden Oberfläche im Zusammenhang steht, da sich die Oberfläche bei Agglomeration nur um etwa 1 % verkleinert. Eine Erhöhung der Temperatur führt zu einer deutlich höheren und schnelleren Auflösung der Silber-Nanopartikel. Bei 37 °C lösen sich bei gleicher eingesetzter Silberkonzentration mehr Ionen in kürzerer Zeit aus den Partikeln. Die Partikel lösen sich jedoch nicht ganz auf, sondern mit der Zeit wird eine Gleichgewichtskonzentration zwischen den Silberionen und den Silber-Nanopartikeln erreicht.

Es stellt sich nun die Frage, wieso sich die Partikel überhaupt in wässriger Lösung auflösen können. Die Auflösung der Silber-Nanopartikel erfordert eine Oxidation des Silbers. Dazu gibt es in wässriger Lösung zwei Möglichkeiten. Entweder die Möglichkeit der Reduktion von Protonen oder die Reduktion von

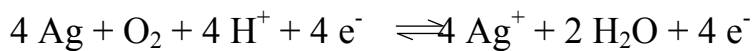
Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

gelösten Sauerstoffmolekülen aus der Luft. Tabelle 11 zeigt die Standardelektrodenpotentiale für diese möglichen Reaktionen.

Tabelle 11: Standardelektrodenpotentiale der möglichen Redox-Reaktionen von Silber in wässrigen Lösungen (nach Referenz^[136]).

Reaktion	E^0 / V
$2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2$ (bei pH = 0)	0
$\text{O}_2 + 4 \text{H}^+ + 4 \text{e}^- \rightleftharpoons 2 \text{H}_2\text{O}$ (bei pH = 0)	+ 1,229 ($p(\text{O}_2) = 1 \text{ bar}$)
$\text{Ag}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Ag}$	+ 0,7996

Anhand der Potentiale ist erkennbar, dass nur der im Wasser gelöste Sauerstoff in der Lage ist, das Silber aufgrund seines positiveren Elektrodenpotentials zu reduzieren. Für die Oxidation von Silber mit gelöstem Sauerstoff ergibt sich dann folgende Reaktion:



Für die Differenz der Standardpotentiale ergibt sich für die Reaktion bei pH = 0 und $p(\text{O}_2) = 1 \text{ bar}$:

$$E^0 = 1,229 \text{ V} - 0,7996 \text{ V} = 0,4294 \text{ V}$$

(Gleichung 10)

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Das positive Standardpotential der Reaktion zeigt, dass die Reaktion freiwillig abläuft. Die Gleichgewichtskonzentration der Silberionen lässt sich über die Nernst-Gleichung berechnen. Die elektromotorische Kraft ΔE^0 ist ein Maß für die freie Reaktionsenthalpie ΔG^0 . Für den Gleichgewichtszustand ist $\Delta G = 0$ und es gilt:

$$\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln K$$

(Gleichung 11)

ΔG^0 : freie Standardreaktionsenthalpie

R : Gaskonstante

T : Temperatur

K : Gleichgewichtskonstante

Die maximale Arbeit, die mit einer chemischen Reaktion bei konstanter Temperatur und konstantem Druck geleistet werden kann, entspricht der Abnahme der freien Enthalpie des Systems. Es gilt:

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

$$\Delta G^0 = - |z| \cdot F \cdot \Delta E^0$$

(Gleichung 12)

$|z|$: Anzahl der Elektronen

F : Faraday-Konstante

ΔE^0 : Elektromotorische Kraft

Durch Gleichsetzen von Gleichung 11 und Gleichung 12 ergibt sich folgende Gleichung für die Gleichgewichtskonstante:

$$\ln K = \frac{|z| \cdot F}{R \cdot T} \cdot \Delta E^0$$

(Gleichung 13)

Dabei gilt für die Gleichgewichtskonstante

$$K = \frac{[Ag^+]^4 \cdot [H_2O]^2}{[Ag]^4 \cdot [O_2] \cdot [H^+]^4} = \frac{[Ag^+]^4 \cdot [H_2O]^2}{p(O_2) \cdot [H^+]^4}$$

(Gleichung 14)

$p(O_2)$: Partialdruck des Sauerstoffs

Durch Einsetzen von Gleichung 14 in Gleichung 13 ergibt sich daraus:

$$[Ag^+]^4 = \frac{p(O_2) \cdot [H^+]^4}{[H_2O]^2} \exp\left(\frac{|z| \cdot F}{R \cdot T} \cdot \Delta E^0\right)$$

(Gleichung 15)

Da die Experimente in Reinstwasser bei pH 5 durchgeführt wurden, wurde für die H^+ -Konzentration $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ eingesetzt, und für die Konzentration des Wasser $55,55 \text{ mol L}^{-1}$. Für die Temperaturen wurden 298 K bzw. 310 K, entsprechend den Temperaturen von 25 °C bzw. 37 °C, bei denen die Dialyseexperimente durchgeführt wurden, eingesetzt. Daraus ergibt sich für die Silberionenkonzentration im Gleichgewicht bei 25 °C:

$$[Ag^+] = p(O_2)^{\frac{1}{4}} \cdot 24,47 \text{ mol L}^{-1}$$

(Gleichung 16)

und bei 37 °C:

$$[Ag^+] = p(O_2)^{\frac{1}{4}} \cdot 12,86 \text{ mol L}^{-1}$$

(Gleichung 17)

In einem Liter Wasser lösen sich bei einem Druck von 1 atm 9 mL Sauerstoff bei 25 °C.^[137] Mit Hilfe der allgemeinen Gasgleichung lässt sich so die Stoffmenge des gelösten Sauerstoffs berechnen:

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

$$p \cdot V = n \cdot R \cdot T$$

(Gleichung 18)

Aus Gleichung 18 ergeben sich bei 25 °C bzw. 37 °C folgende Stoffmengen für den gelösten Sauerstoff in einem Liter Wasser:

$$n_{25^{\circ}\text{C}} = 3,68 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

$$n_{37^{\circ}\text{C}} = 3,54 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

Daraus ergibt sich in einem Liter Wasser eine Konzentration von $3,68 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ bzw. $3,54 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ für den Sauerstoff. Es gilt ebenfalls:

$$c(\text{O}_2) \approx p(\text{O}_2) = 3,64 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} \text{ bzw. } 3,54 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$$

Mit Hilfe des Partialdrucks vom Sauerstoff kann jetzt die Silberionenkonzentration im Gleichgewicht aus Gleichung 17 bestimmt werden. Daraus ergibt sich:

$$[\text{Ag}^+] = 3,38 \text{ mol L}^{-1} \text{ bei } 25^{\circ}\text{C} \text{ und}$$

$$[\text{Ag}^+] = 1,76 \text{ mol L}^{-1} \text{ bei } 37^{\circ}\text{C}$$

Die höchste Silberkonzentration, die für die Löslichkeit der Silber-Nanopartikel eingesetzt wurde, war $0,35 \text{ g L}^{-1}$, was einer Stoffmenge von $3,25 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

entspricht. Diese Menge ist geringer als die Gleichgewichtskonzentration. Daraus ergibt sich, dass die Silber-Nanopartikel in wässriger Lösung sowohl bei 25 °C als auch bei 37 °C durch den im Wasser gelösten Sauerstoff oxidiert werden können. Die Stoffmenge des gelösten Silbers ist um den Faktor 10 größer als die des gelösten Sauerstoffs. Für die Oxidation von Silber mit gelöstem Sauerstoff wird für vier Ag ein O₂ benötigt. Es wäre also möglich, dass die Eindiffusion von O₂⁺ geschwindigkeitsbestimmend ist. Dann müssten sich die Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel genauso schnell auflösen, wie die PVP-stabilisierten. Die Ergebnisse der Löslichkeiten der Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel sind in Kapitel 4.2.3 dargestellt.

4.2.3 Löslichkeit von Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikeln

Neben den PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln wurden auch die mit Citrat stabilisierten Silber-Nanopartikel bezüglich ihrer Löslichkeit untersucht. Abbildung 42 zeigt die Löslichkeit von Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikeln bei 25 °C.

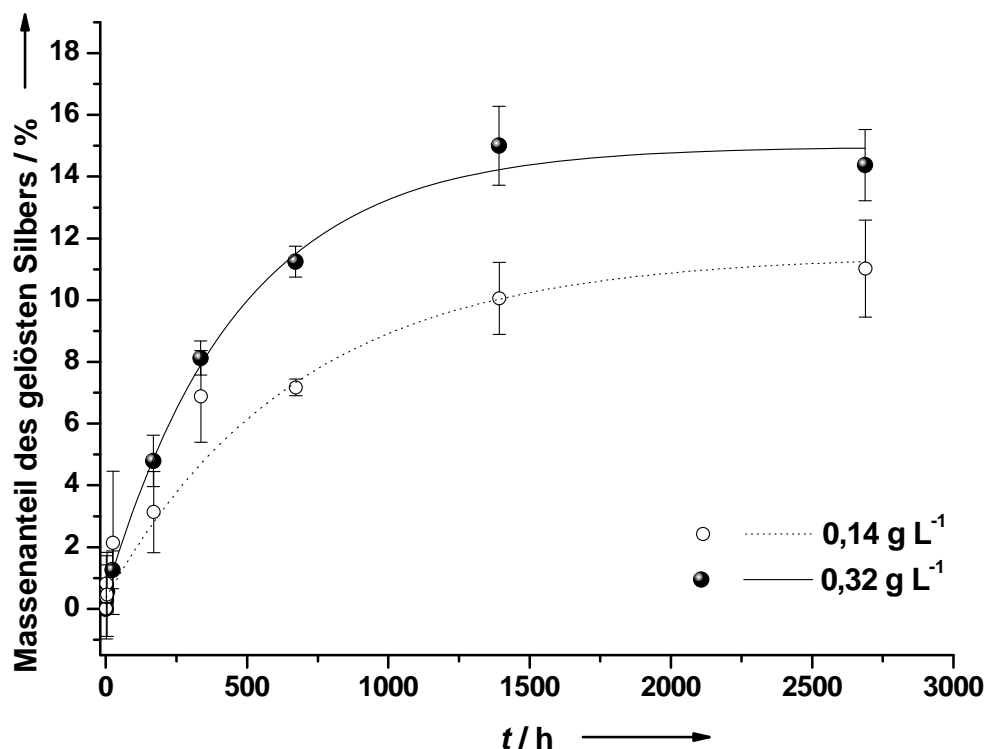


Abbildung 42: Auflösung Citrat-stabilsierter Silber-Nanopartikel ($d = 70$ nm) verschiedener Konzentrationen in Wasser bei 25 °C.

In dieser Abbildung wurde die Menge an freigesetztem Silber bezogen auf die Gesamtmenge an Silber, die in Form von Nanopartikeln eingesetzt wurde, gegen die Zeit aufgetragen. Die Abbildung zeigt, dass die gelöste Menge an Silber von der eingesetzten Silberkonzentration abhängig war. Bei einer Silberkonzentration von $0,14 \text{ g L}^{-1}$ lösten sich im Verlauf der Zeit 10 % der eingesetzten Silbermenge heraus. Eine Erhöhung der eingesetzten Konzentration auf $0,32 \text{ g L}^{-1}$ führte zu einer Freisetzung von 15 % der eingesetzten Silbermenge. Im Vergleich zu der Auflösung der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel (siehe Kapitel 4.2.2) verläuft die Auflösung der Citrat-stabilisierten Nanopartikel bei 25 °C viel langsamer. Erst nach etwa 70 Tagen lagen die freigesetzten Silberionen mit den Nanopartikeln im Gleichgewicht. In

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Tabelle 12 sind die Ergebnisse bezogen auf die Oberfläche der Partikel nochmal zusammengestellt.

Tabelle 12: Ergebnisse der Auflösung Citrat-stabilisierter Silber-Nanopartikel bei 25 °C.

	Startkonzentration $\beta_{\text{Ag}} / \text{g L}^{-1}$	
	0,14	0,32
β_{Ag^+} freigesetzt im Gleichgewicht / g L^{-1}	0,0154	0,048
Größe eines Ag-Partikels / nm	52	52
Ag-Oberfläche pro L/ m^2	1,544	3,529
ω_{Ag^+} freigesetzt / %	11	15
Zeit bis zum Erreichen des Gleichgewichts / h	1500	1500

Da die Partikel in beiden Fällen gleich groß waren, stieg mit steigender Konzentration auch die gesamte Partikeloberfläche. Je größer die Oberfläche war, desto mehr Silberionen konnten auch aus den Partikeln herausgelöst werden. Abbildung 43 zeigt die Menge an freigesetztem Silber bezogen auf die Gesamtmenge an Silber, die in Form von Nanopartikeln eingesetzt wurde, aufgetragen gegen die Zeit bei einer Temperatur von 37 °C.

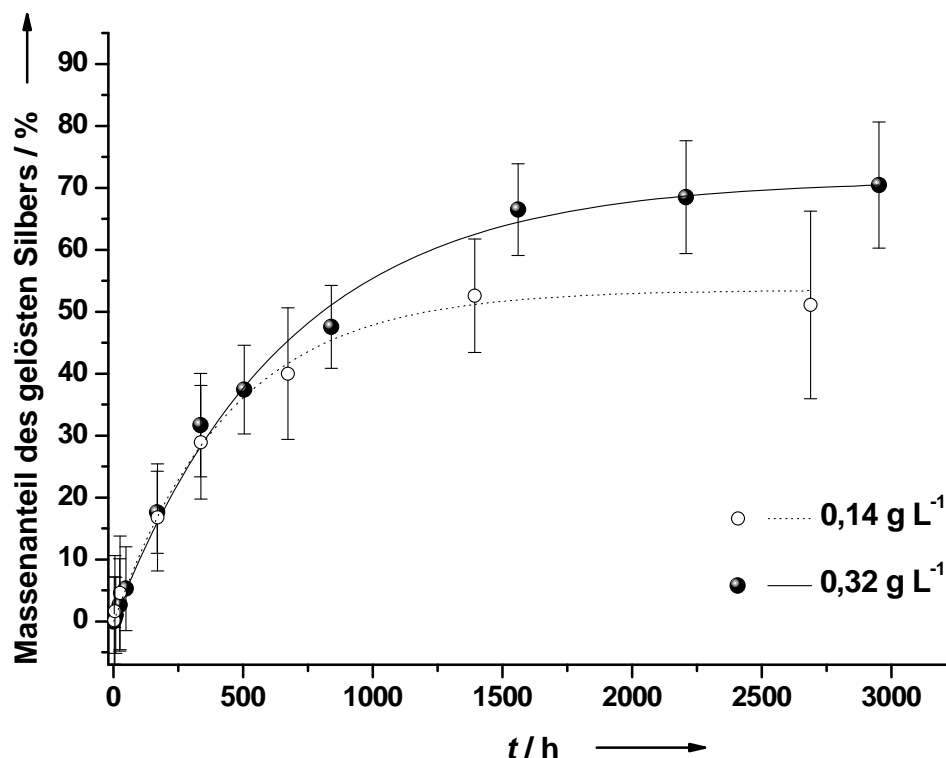


Abbildung 43: Auflösung Citrat-stabilsierter Silber-Nanopartikel ($d = 70$ nm) verschiedener Konzentrationen in Wasser bei 37 °C.

Der Verlauf der Löslichkeitskurven ist hier ähnlich wie bei den Kurven für 25 °C. Mit steigender Silberkonzentration nimmt auch die gelöste Menge an Silberionen zu. Bei 37 °C wurden allerdings mehr Silberionen aus den Partikeln gelöst. Bei einer Konzentration von 0,14 g L⁻¹ lösten sich bei 37 °C bereits 51 % der Silber-Nanopartikel, während bei einer Konzentration von 0,34 g L⁻¹ sogar 70 % freigesetzt wurden. Für die niedrigere Konzentration wurde das Gleichgewicht zwischen Ionen und Partikeln bei 37 °C ebenso wie bei 25 °C nach etwa 70 Tagen erreicht. Bei einer Konzentration von 0,34 g L⁻¹ für die Dispersion wurde der Gleichgewichtszustand erst nach etwa 100 Tagen erreicht. Die Ergebnisse für die PVP-stabilisierten Partikel (Kapitel 4.2.2) haben gezeigt, dass sich die Partikel bei 37 °C schneller auflösten als bei 25 °C. Die Citrat-stabilisierten Partikel zeigten ein anderes Verhalten. Bei einer Konzentration

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

von $0,34 \text{ g L}^{-1}$ erhöhte sich die Zeit, die zum Erreichen eines Konzentrationsgleichgewichts benötigt wurde, bei einer gleichzeitigen Temperaturerhöhung um etwa einen Monat. Citrat selbst hat reduzierende Eigenschaften, die mit steigender Temperatur ebenfalls zunehmen. Wie Stabilitätsuntersuchungen gezeigt haben, lässt sich die stabilisierende Citrathülle leicht ablösen und die Partikel agglomerieren schnell. Dadurch besteht die Möglichkeit, dass ein Teil der herausgelösten Silberionen wieder durch das vorhandene Citrat reduziert wird. Dieser Effekt steigt mit einer Temperaturerhöhung. Die Menge an freigesetztem Silber stieg dadurch langsamer und es dauerte länger, einen Gleichgewichtszustand zu erreichen. Wie groß dieser Anteil bezogen auf die Partikeloberfläche ist, wird in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Ergebnisse der Auflösung Citrat-stabilsierter Silber-Nanopartikel bei 37°C .

	Startkonzentration $\beta_{\text{Ag}} / \text{g L}^{-1}$	
	0,14	0,32
β_{Ag^+} freigesetzt im Gleichgewicht / g L^{-1}	0,0742	0,1792
Größe eines Ag-Partikels / nm	52	52
Ag-Oberfläche pro L/ m^2	1,544	3,529
ω_{Ag^+} freigesetzt / %	53	56
Zeit bis zum Erreichen des Gleichgewichts / h	1700	2500

Auch hier nimmt mit steigender Konzentration die Oberfläche zu, und es kommt zu einer höheren Auflösungsrate. Wie schon die Experimente bei 25°C gezeigt haben, dauerte die Einstellung des Gleichgewichts zwischen freigesetzten Ionen

und Nanopartikeln für die Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel etwa zwei Monate. Im Vergleich dazu wurde dieser Gleichgewichtszustand bei den PVP-stabilisierten Partikeln bereits nach ungefähr einer Woche erreicht. Der Grund hierfür ist vermutlich die reduzierende Wirkung des Citrats. Eine Veränderung der Größe während der Auflösung konnte für die Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel nicht beobachtet werden. Im Gegensatz zu den PVP-stabilisierten Partikeln zeigten diese Partikel eine bimodale Größenverteilung in der Dynamischen Lichtstreuung (Abbildung 44).

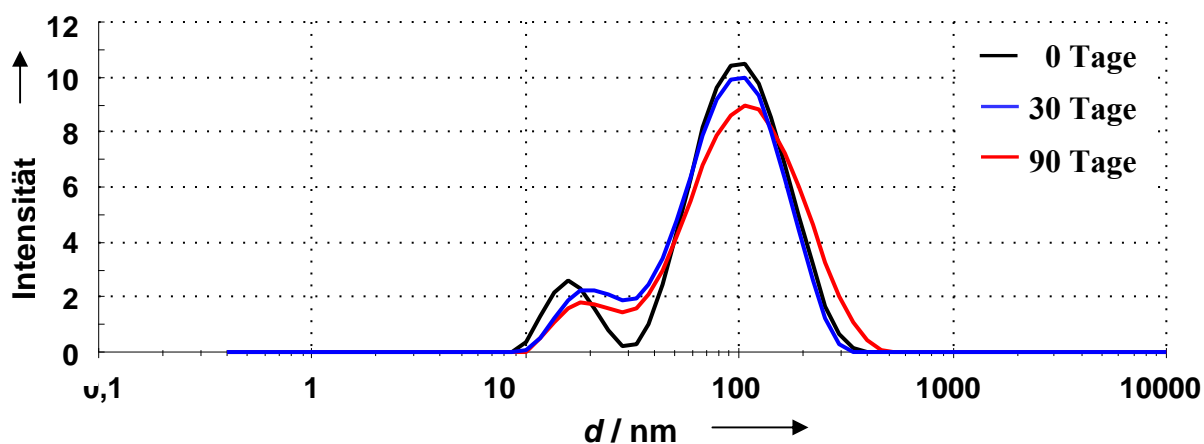


Abbildung 44: Veränderung der Größenverteilung während der Auflösung von Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,14 \text{ g L}^{-1}$) bei 37 °C.

Zu Beginn der Dialyse waren zwei Peaks bei der Größenverteilung erkennbar. Im Verlauf der Dialyse gingen diese beiden Peaks langsam ineinander über. Gegen Ende der Dialyse verschob sich die Größenverteilung zu etwas größeren Durchmessern. Bereits nach der Synthese lagen Partikel unterschiedlicher Größe in der Dispersion vor. Diese verschieden großen Partikel lösten sich dann langsam auf und wurden kleiner. Unter der Annahme, dass auch einige Partikel agglomerieren, kommt es gleichzeitig zu einem Partikelwachstum. Am Ende

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

waren weiterhin verschieden kleine und große Partikel in der Dispersion vorhanden, so dass in der Dynamischen Lichtstreuung keine Unterschiede erkennbar waren. Die Dispersion war gegen Ende der Dialyse nicht mehr stabil. Die Proben wurden daher vor der Messung der Dynamischen Lichtstreuung im Ultraschallbad redispergiert.

In Kapitel 4.2.2 wurde bereits gezeigt, dass die Silber-Nanopartikel durch den im Wasser gelösten Sauerstoff oxidiert werden können. Es stellte sich nun die Frage, ob die Eindiffusion von O_2^+ der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist. Dann müssten sich die PVP- und die Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel gleich schnell auflösen. Die Ergebnisse der Löslichkeitsexperimente haben jedoch gezeigt, dass die Auflösung der Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel viel langsamer verläuft. Die Eindiffusion des Sauerstoffs scheint also nicht der geschwindigkeitsbestimmende Schritt zu sein. Außerdem sollte sich dann auch keine Gleichgewichtskonzentration einstellen, welche jedoch bei allen Versuchen beobachtet werden konnte.

4.2.4 Kinetik der Löslichkeitsuntersuchungen

Um die Ergebnisse der verschiedenen Löslichkeitsexperimente besser interpretieren und vergleichen zu können, wurde als nächstes die Kinetik ermittelt. Die Kurven für die Diffusion der Silberionen und die Löslichkeitskurven der Silber-Nanopartikel zeigen näherungsweise eine Reaktion erster Ordnung aus der Sicht der Produktseite. Die Reaktion erster Ordnung ist jedoch nur eine Annahme, da der wahre Mechanismus für die Auflösungs-Kinetik der Silber-Nanopartikel aufgrund der komplexen Reaktion nicht bekannt ist. Zur Bestimmung der Kinetik müssen die Kurven zunächst in eine Reaktion erster Ordnung überführt werden. Dazu muss die durch den

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Dialyseschlauch diffundierte Menge an Silber in die Menge an Silber, die im Dialyseschlauch vorhanden ist, über die Formel

$$y_{neu} = 1 - y_{alt}$$

(Gleichung 19)

umgerechnet werden. Dabei steht y_{alt} für die durch den Schlauch diffundierte Menge an Silber in Prozent, und y_{neu} für die Silbermenge im Dialyseschlauch in Prozent. Gleichung 19 gilt jedoch nur für den Fall, dass bei der Diffusion ein Wert von 100 % erreicht wird. Abbildung 45 zeigt den Verlauf der Dialyse mit den neu berechneten y -Werten exemplarisch für die Diffusion der Silberionen bei 37 °C durch den Dialyseschlauch aus Celluloseester. Im Vergleich zu Abbildung 31 wurde hier nicht die durch den Schlauch diffundierte Menge an Silberionen aufgetragen, sondern die Menge, die im Dialyseschlauch vorhanden war. Dadurch wird eine Reaktion erster Ordnung angenommen.

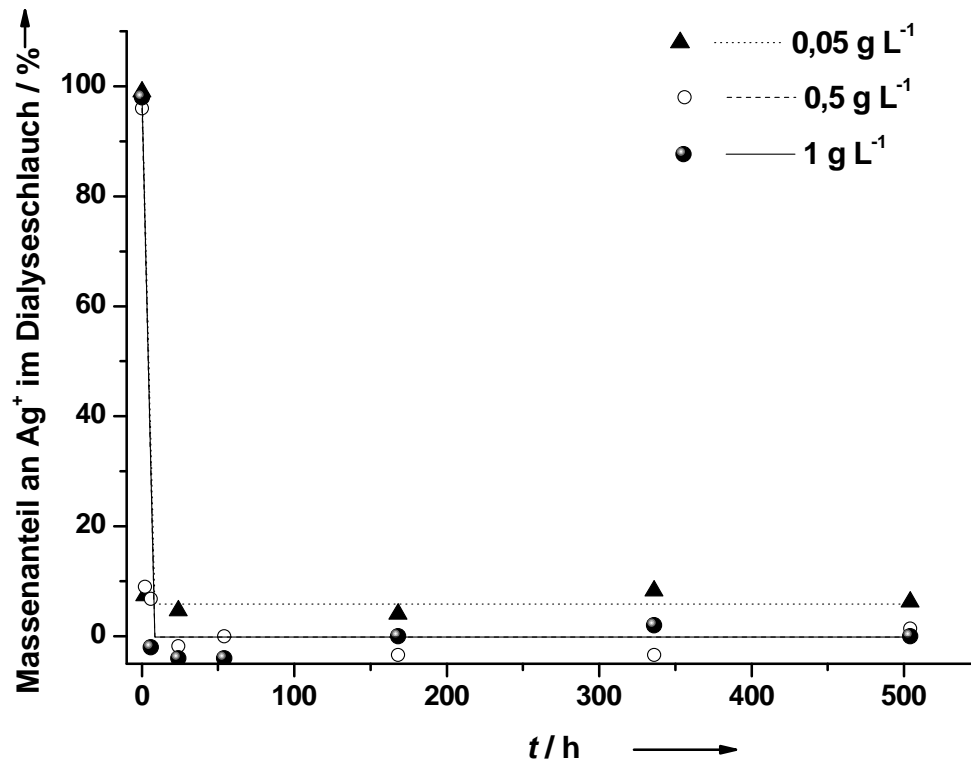


Abbildung 45: Diffusion von Silberionen (als Silbernitrat) verschiedener Konzentrationen durch einen Dialyseschlauch aus Celluloseester in Wasser bei 37 °C (entspricht y_{neu} gegen t in Gleichung 19).

Daraus ergibt sich der Ausdruck für eine modifizierte Reaktion erster Ordnung der Form:

$$y_{neu} = y_0 \cdot (1 - \exp(-k \cdot t))$$

(Gleichung 20)

k : Geschwindigkeitskonstante

t : Zeit in Stunden

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Die Auftragung von $\ln(y_{neu})$ gegen die Zeit ergibt für die Reaktion erster Ordnung eine Gerade, aus deren Steigung die Geschwindigkeitskonstante k ermittelt werden kann. Über

$$\tau = \ln(2) / k$$

(Gleichung 21)

kann die Halbwertszeit τ bis zum Erreichen der Gleichgewichtskonzentration bestimmt werden. Dabei wurden die Werte mit $y_{neu} \leq 0$ nicht berücksichtigt, da diese nicht logarithmiert werden können. Da aber nicht immer 100 % durch den Dialyseschlauch diffundieren, entspricht die Halbwertszeit nicht immer einem Wert von 50 %, sondern der Zeit bis zur halben Konzentration y_0 . Mit Hilfe der Halbwertszeit kann die Geschwindigkeit der Diffusion bzw. der Reaktion besser verglichen werden. Tabelle 14 zeigt die Ergebnisse für die Diffusion der Silberionen durch den Dialyseschlauch.

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Tabelle 14: Geschwindigkeitskonstante und Halbwertszeit der Diffusion von Silberionen (als Silbernitrat) verschiedener Konzentration durch einen Dialyseschlauch aus Celluloseester bei verschiedenen Temperaturen in Wasser.

$T / ^\circ\text{C}$	$\beta_{Ag} / \text{g L}^{-1}$	y_0	k / h^{-1}	τ / h
25	1	98±2	0,44117	1,6
	0,5	99±1	0,74693	0,9
	0,1	98±2	0,54077	1,3
37	1	93±1	— *	< 2 **
	0,5	96±3	0,38821	1,8
	0,05	99±2	— *	< 2 **

* Nicht bestimmbar, da $y_{neu} < 0$

** Graphisch ermittelt

Die Ergebnisse zeigen, dass die Silberionen etwa eine Stunde benötigen, um durch den Dialyseschlauch zu diffundieren. Die Reaktion bei 37 °C war in manchen Fällen so schnell, dass die Geschwindigkeitskonstante nicht bestimmt werden konnte, da $y_{neu} < 0$ war. Durch die schnelle Diffusion konnte nur ein Messpunkt vor dem Erreichen des Gleichgewichts erhalten werden. Dadurch war es nicht möglich, die Kinetik dabei zu bestimmen.

Da sich die Silber-Nanopartikel nicht zu 100 % auflösen, muss für die Kinetik der Löslichkeit der Nanopartikel die Formel zur Berechnung von y_{neu} mit dem Endwert y_0 der Auflösung, bei dem sich eine Art Gleichgewichtszustand eingestellt hat modifiziert werden:

$$y_{neu} = y_0 - y_{alt}$$

(Gleichung 22)

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

y_0 kann dabei graphisch aus dem Fit für die Löslichkeitskurven der Silber-Nanopartikel bestimmt werden. Tabelle 15 zeigt die Ergebnisse für die Auflösung PVP-stabilisierter Silber-Nanopartikel.

Tabelle 15: Geschwindigkeitskonstante und Halbwertszeit der Auflösung von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln verschiedener Konzentration bei verschiedenen Temperaturen in Wasser.

$T / ^\circ\text{C}$	$\beta_{Ag} / \text{g L}^{-1}$	y_0	k / h^{-1}	τ / h
25	0,35	48±3	0,00516	134
	0,1	52±3	0,00856	81
	0,05	43±3	0,01657	42
37	0,35	56±4	0,02539	27
	0,1	89±4	0,02596	27
	0,05	68±4	0,06101	11

Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl eine Erniedrigung der Konzentration als auch eine Erhöhung der Temperatur zu einer schnelleren Auflösung der Silber-Nanopartikel führen. Erst durch die Betrachtung der Kinetik sind die Löslichkeitsexperimente wirklich vergleichbar und es lässt sich eine Aussage darüber treffen, wie schnell sich die Partikel unter welchen Bedingungen auflösen.

Tabelle 16 zeigt die Ergebnisse für die Auflösung Citrat-stabilisierter Silber-Nanopartikel.

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Tabelle 16: Geschwindigkeitskonstante und Halbwertszeit der Auflösung von Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikeln verschiedener Konzentration bei verschiedenen Temperaturen in Wasser.

$T / ^\circ\text{C}$	$\beta_{Ag} / \text{g L}^{-1}$	y_0	k / h^{-1}	τ / h
25	0,32	15,0±1	0,00206	336
	0,14	11,5±1	0,00169	410
37	0,32	56±3	0,00226	307
	0,14	53±3	0,00156	444

Die Ergebnisse zeigen, dass eine Erniedrigung der Konzentration zu einer höheren Halbwertszeit und damit zu einer langsameren Auflösung der Silber-Nanopartikel führt. Bei einer Erhöhung der Temperatur verändern sich die Geschwindigkeiten kaum.

4.2.5 Zusammenfassung der Ergebnisse der Löslichkeitsuntersuchungen

Die Löslichkeit der Silber-Nanopartikel wurde durch Dialysen ermittelt. Dazu wurde zunächst ein Dialyseschlauch ausgewählt, der weder mit den Silberionen, noch mit den Silber-Nanopartikeln wechselwirken konnte. Im nächsten Schritt wurde die Diffusionsgeschwindigkeit der Silberionen durch die Dialysemembran analysiert. Hierbei zeigte sich, dass sowohl bei 25 °C als auch bei 37 °C bereits nach wenigen Stunden 99 % der Silberionen aus dem Dialyseschlauch heraus diffundiert waren und sich ein Konzentrationsgleichgewicht außerhalb und innerhalb des Dialyseschlauchs eingestellt hatte. Die Bestimmung des Diffusionskoeffizienten der Silberionen durch den Dialyseschlauch ergab für die verschiedenen Konzentrationen und Temperaturen Werte von $7,77 \cdot 10^{-12}$ bis $9,32 \cdot 10^{-12} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$.

Die Löslichkeit der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel wurde für verschiedene Partikelkonzentrationen bei 25 °C und 37 °C untersucht. Die

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Löslichkeitsuntersuchungen bei 25 °C zeigten, dass die freigesetzte Silbermenge bei niedrigen Konzentrationen nur von der gesamten Oberfläche in der Dispersion abhing. Eine Konzentration von 0,35 g L⁻¹ führte bereits zur Agglomeration der Nanopartikel, wodurch die Oberfläche und daraus resultierend auch die freigesetzte Menge an Silberionen erniedrigt wurden. Die Löslichkeitsuntersuchungen bei 37 °C zeigten ein ähnliches Ergebnis. Auch hier waren die Partikel bei dieser Konzentration bereits teilweise agglomeriert. Ein Vergleich der beiden untersuchten Temperaturen zeigte, dass sich die Partikel bei 37 °C deutlich schneller aufgelöst hatten. Auch die Menge an freigesetztem Silber stieg mit der Temperatur deutlich an. Diese Ergebnisse führen zu dem Schluss, dass die Geschwindigkeit der Auflösung von der Temperatur abhängig war. Die Gleichgewichtskonzentration, die sich zwischen den Silber-Nanopartikeln und den herausgelösten Silberionen eingestellt hatte, war ebenfalls stark temperaturabhängig. Die Freisetzung von Silberionen aus Silber-Nanokompositen wurde von Damm et al. untersucht. In dieser Studie konnte ebenfalls die Einstellung einer Gleichgewichtskonzentration beobachtet werden.^[138,139]

Neben den PVP-stabilisierten Partikeln wurde auch die Löslichkeit Citrat-stabilisierter Partikel untersucht. Hierbei konnte ebenfalls nachgewiesen werden, dass die Löslichkeit der Partikel direkt von der gesamten Oberfläche abhängig war. Dadurch stieg bei einer Erhöhung der Partikelkonzentration auch die Menge an freigesetztem Silber. Eine Erhöhung der Temperatur von 25 °C auf 37 °C führte zwar wie bei den PVP-stabilisierten Partikeln zu einer Erhöhung der Löslichkeit, allerdings wurde die Gleichgewichtskonzentration zwischen den Silber-Nanopartikeln und den Silberionen erst deutlich später erreicht. Der Grund hierfür liegt in der Natur des Citrats. Citrat hat bereits bei 37 °C eine reduzierende Wirkung.^[140] Dadurch stand bei einer Temperatur von 37 °C die Auflösung der Partikel in Konkurrenz zu der Reduktion der gebildeten Silberionen durch das Citrat. Aus diesem Grund wurde die

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Gleichgewichtskonzentration bei 37 °C erst viel später erreicht. Fabrega et al. haben bereits die Abhängigkeit des pH-Werts von der Löslichkeit Citrat-stabilisierter Silber-Nanopartikel untersucht.^[141]

Über eine modifizierte Reaktion erster Ordnung wurde die Kinetik der Löslichkeitsexperimente bestimmt. Die Ergebnisse dieser Experimente sind in Tabelle 17 zusammengefasst.

Tabelle 17: Ergebnisse der Auflösung von Silber-Nanopartikeln und der Diffusion von Silberionen (als Silbernitrat).

	T / °C	β_{Ag} / g L ⁻¹	ω_{Ag^+} / %	t / h	D / m ² s ⁻¹	k / h ⁻¹	τ / h
AgNO₃	25	0,1	98	8	$9,32 \cdot 10^{-12}$	0,54077	1,3
		0,5	99	6	$7,77 \cdot 10^{-12}$	0,74693	0,9
		1	98	24	$9,32 \cdot 10^{-12}$	0,44117	1,6
	37	0,05	99	6	$9,32 \cdot 10^{-12}$	–	< 2
		0,5	96	24	$7,77 \cdot 10^{-12}$	0,38821	1,8
		1	93	24	$1,12 \cdot 10^{-12}$	–	< 2
PVP	25	0,05	43	100	-	0,01657	42
		0,1	52	300	-	0,00856	81
		0,35	48	360	-	0,00516	134
	37	0,05	68	100	-	0,06101	11
		0,1	89	160	-	0,02596	27
		0,35	52	110	-	0,02539	27
Citrat	25	0,14	11	1500	-	0,00169	410
		0,32	15	1500	-	0,00206	336
	37	0,14	53	1700	-	0,00156	444
		0,32	56	2500	-	0,00226	307

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Die Diffusion der Silberionen durch die Dialysemembran war bedeutend schneller als die Freisetzung der Silberionen aus den Partikeln. Daher ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Löslichkeit die Auflösung der Partikel und nicht die Diffusion der Ionen durch die Membran. Der Vergleich der Halbwertszeiten zeigt, dass sich die PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel deutlich schneller auflösen als die Citrat-stabilisierten. Ein möglicher Grund hierfür ist die reduzierende Wirkung des Citrats. Damit die Partikel sich überhaupt auflösen können, muss das Silber in wässriger Lösung oxidiert werden. Eine Betrachtung des im Wasser gelösten Sauerstoffs ergab, dass dieser in der Lage ist, das Silber in den eingesetzten Konzentrationen zu oxidieren. Jedoch ist die Eindiffusion von O_2^+ nicht der geschwindigkeitsbestimmende Schritt, da sich die PVP- und die Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel nicht gleich schnell aufgelöst haben.

Aufgrund des immer größer werdenden Einsatzes von Silber-Nanopartikeln im medizinischen Bereich, wurden bereits einige Studien über die Löslichkeit von Silberionen aus den Partikeln veröffentlicht. Die Freisetzung von Silber aus Wundverbänden, die mit nanokristallinem Silber beschichtet waren, in reines Wasser wurde bereits untersucht und es wurden etwa 50 bis 100 ppm Silber freigesetzt.^[106] Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass die Menge an freigesetztem Silber stark von dem umgebenden Medium abhängt. Nanokristallines Silber gibt in reinem Wasser 50 bis 70 ppm des eingesetzten Silbers ab^[142], 0,8 ppm in Salzlösung und 640000 ppm in Thiosulfat-Lösung.^[143] Diese Ergebnisse zeigen, wie stark die Freisetzung von den Medien abhängt. Die Löslichkeitsuntersuchungen, die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführt wurden, gelten nur für reine wässrige Lösungen. Es lassen sich daher nicht direkt Rückschlüsse darauf ziehen, wie das Gleichgewicht zwischen Silber-Nanopartikeln und Silberionen in den verschiedenen Zellkulturmedien aussehen wird. Anhand der Literaturdaten ist zu vermuten, dass die Menge an freien Silberionen in den Zellkulturmedien, welche bei den Zellexperimenten, die in

Ergebnisse und Diskussion - Löslichkeitsuntersuchungen

Kapitel 4.4 erläutert werden, geringer ist, als in diesem Kapitel experimentell bestimmt wurde. Alle Zellkulturmedien enthalten einen gewissen Salzanteil. Die Silberionen können von den Salzen oder organischen Bestandteilen gebunden werden und sind dann nicht mehr biologisch wirksam. Ebenso besteht die Möglichkeit, dass die Oberfläche eines Silber-Nanopartikels durch Abscheidung schwerlöslicher Salze wie z.B. AgCl oder Ag_3PO_4 passiviert wird.

4.3 Dispersionsverhalten von Silber-Nanopartikeln in verschiedenen biologischen Medien

4.3.1 Dispersion von Silber-Nanopartikeln in Wasser und PBS

Die Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel wurden hinsichtlich ihrer Stabilität bei 25 °C untersucht. Dazu wurden die Partikel mit einer Konzentration von $0,14 \text{ g L}^{-1}$ in Wasser dispergiert und unter Lichtausschluss gelagert. Über einen Zeitraum von acht Wochen wurde zu verschiedenen Zeitpunkten die Größe mittels DLS bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 46 dargestellt.

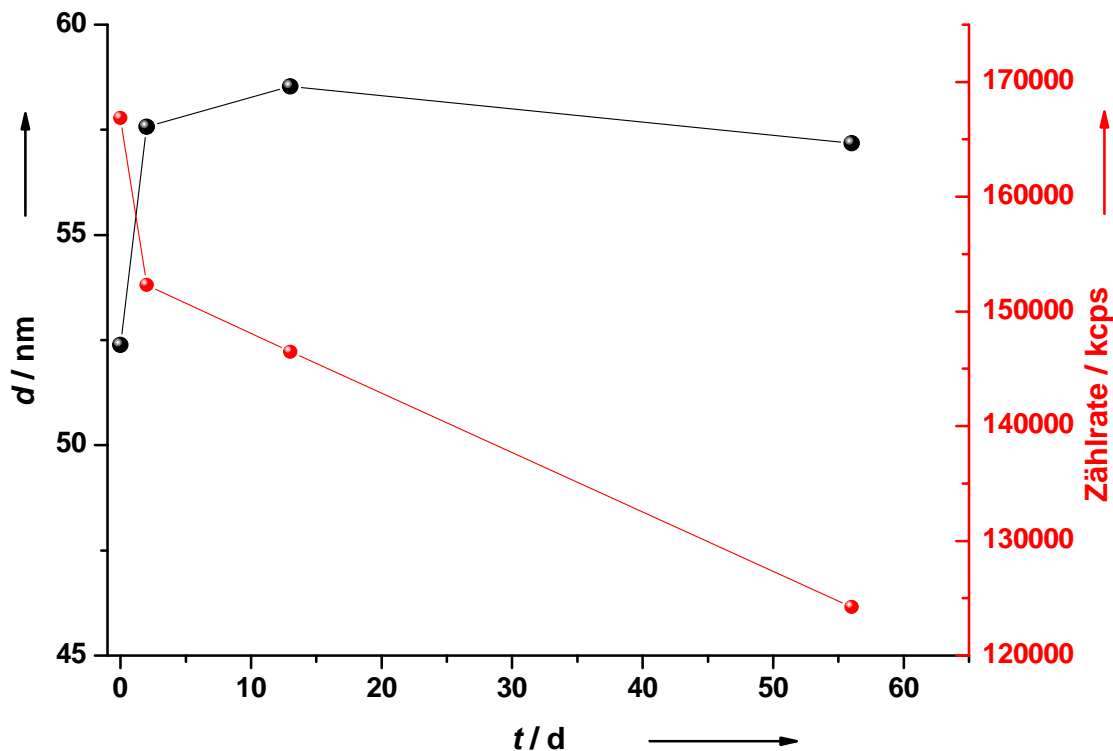


Abbildung 46: Stabilität von Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($d = 70 \text{ nm}$) in Wasser bei 25 °C.

Neben der Änderung der Größe wurde auch die daraus abgeleitete Anzahl der registrierten Partikel aufgetragen. Die Größe der Partikel stieg innerhalb weniger

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

Stunden etwas an und blieb dann konstant. Die Partikel scheinen hinsichtlich der Größe über den untersuchten Zeitraum hinweg stabil zu sein. Optisch war jedoch zu erkennen, dass immer mehr Partikel agglomerierten und die gelbliche Dispersion immer heller und klarer wurde. Die Streuintensität bestätigte dieses Ergebnis. Im Verlauf der Zeit nahm die Streuintensität immer weiter ab. Die Anzahl der Partikel in der Dispersion wurde also immer kleiner. Da die Partikelgröße konstant blieb, agglomerierten und sedimentierten die Partikel offenbar schnell. Dadurch erschienen die agglomerierten Partikel nicht in der Größenverteilung. Bei 37 °C und in den Zellkulturmedien wie PBS und RPMI waren die Partikel kaum stabil. Daher wurden mit den Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikeln keine weiteren Untersuchungen bezüglich des Dispersionsverhaltens in verschiedenen biologischen Medien durchgeführt.

Die PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel wurden hinsichtlich ihres Dispersionsverhaltens und ihrer Stabilität in verschiedenen biologischen Medien untersucht. Die ersten Untersuchungen fanden in Wasser statt. Wie sich eine Dispersion der Silber-Nanopartikel in reinem Wasser über einen längeren Zeitraum hinweg unter Lichtausschluss verhält, ist in Abbildung 47 dargestellt.

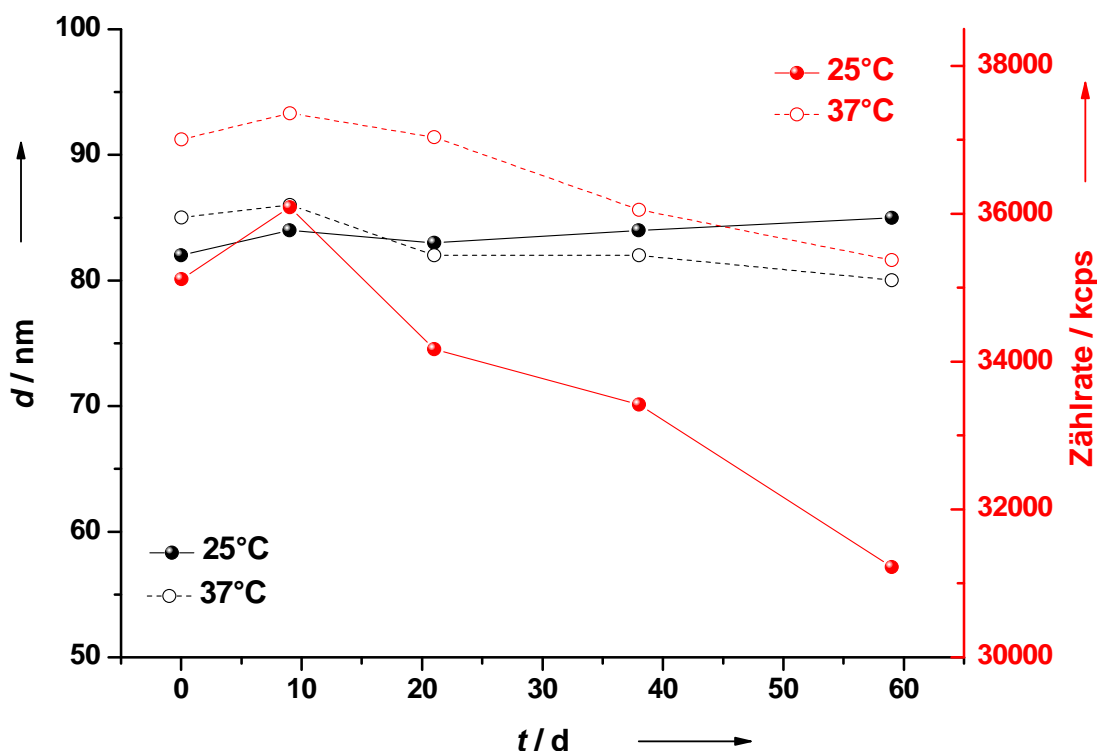


Abbildung 47: Stabilität von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,05 \text{ g L}^{-1}$, $d = 90 \text{ nm}$ durch Reduktion mit Glukose) in Wasser über einen Zeitraum von zwei Monaten.

Neben der Änderung der Größe wurde die dazu gehörige Streuintensität der Partikel aufgetragen. Die Größe der Silber-Nanopartikel veränderte sich hier bei einer Temperatur von 25 °C über einen Zeitraum von zwei Monaten kaum. Die Dispersion kann daher immer noch als stabil betrachtet werden. Auch bei einer Temperaturerhöhung auf 37 °C konnte keine Veränderung in der Größe und der Stabilität beobachtet werden. Der Verlauf der Größen zeigte für die Lagerung bei 37 °C den Trend, dass die Partikel im Laufe der Zeit etwas kleiner wurden. Dieser Effekt lässt sich auf die Löslichkeit der Silber-Nanopartikel zurückführen. In Kapitel 4.2.2 konnte bereits gezeigt werden, dass sich die Silber-Nanopartikel mit der Zeit auflösen und Silberionen freigesetzt werden. Dies geschieht solange, bis sich ein Gleichgewicht zwischen den Silber-Nanopartikeln und den herausgelösten Silberionen eingestellt hat. Dabei konnte

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

beobachtet werden, dass die durchschnittliche Partikelgröße abnahm. Diese Größenabnahme ist jedoch bei den Stabilitätsuntersuchungen deutlich geringer als bei den Löslichkeitsuntersuchungen. Die eingesetzte Partikelkonzentration war in beiden Fällen gleich groß. Allerdings wurde bei den Löslichkeitsexperimenten gegen die 100fache Menge an Wasser, bezogen auf die eingesetzte Partikeldispersion, dialysiert. Es konnten sich daher viel mehr Silberionen aus den Partikeln lösen, bevor ein Gleichgewicht erreicht wurde. Da die Proben bei den Stabilitätsuntersuchungen nicht im Verhältnis 1:100 verdünnt wurden, wurde dieses Gleichgewicht viel schneller erreicht, was eine geringere Abnahme der Größe zur Folge hatte. Die Änderung der Streuintensität bestätigte diese Ergebnisse. Die Anzahl der Partikel während der DLS-Messung nahm mit der Zeit zwar etwas ab, jedoch kann diese geringe Abnahme mit der Auflösung einiger Partikel erklärt werden. Die Partikel wurden bei 25 °C im Vergleich zu 37 °C etwas größer. Auch hier nahm die Streuintensität etwas ab, während bei 37 °C keine Änderung erkennbar war. Die Zunahme der Größe und die Abnahme der Partikelzahl weisen darauf hin, dass ein Teil der Partikel bei 25 °C agglomeriert und sedimentiert war. Die Dispersionen konnten jedoch insgesamt als stabil über den gesamten Zeitraum angesehen werden.

Im nächsten Schritt wurde die Stabilität der Partikel in PBS untersucht. PBS ist eine Phosphat-gepufferte Salzlösung, die aus Natriumchlorid (8 g L^{-1}), Kaliumchlorid ($0,2 \text{ g L}^{-1}$), Dinatriumhydrogenphosphat ($1,44 \text{ g L}^{-1}$) und Kaliumdihydrogenphosphat ($0,24 \text{ g L}^{-1}$) besteht und mit Salzsäure oder Natronlauge auf einen pH-Wert von 7.4 eingestellt wird. Da PBS isotonisch und nicht schädlich für Zellen ist, wird es häufig zur Aufarbeitung von Zellkulturen benutzt. Abbildung 48 zeigt das Dispersionsverhalten der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel unter Lichtausschluss in PBS.

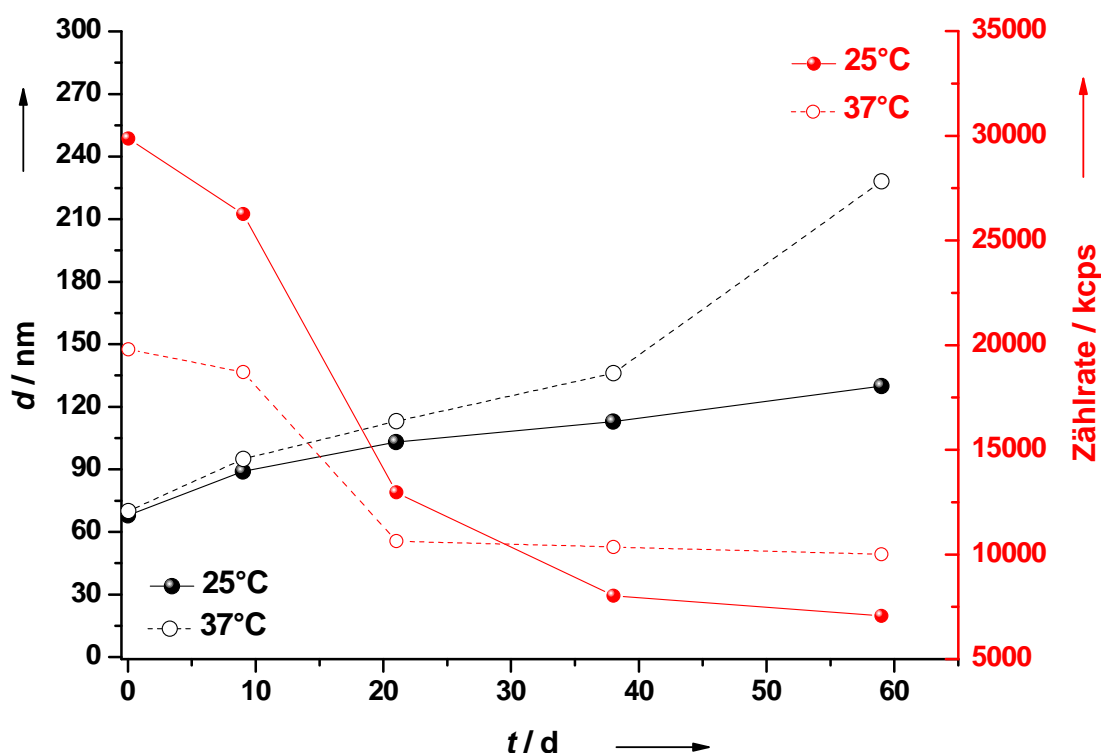


Abbildung 48: Stabilität von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,05 \text{ g L}^{-1}$, $d = 90 \text{ nm}$ durch Reduktion mit Glukose) in PBS über einen Zeitraum von zwei Monaten.

Für beide untersuchten Temperaturen stieg die durchschnittliche Größe der Silber-Nanopartikel deutlich an. Der Anstieg war bei einer Temperatur von 37°C noch etwas stärker als bei 25°C . Die Größenverteilung zeigte, dass die Nanopartikel im Verlauf der Zeit agglomerierten und sedimentierten. Der Verlauf der Streuintensitäten bestätigte dieses Ergebnis. Die Zahl der streuenden Partikel nahm mit der Zeit stark ab, was beweist, dass immer mehr Partikel sedimentierten. Dieser Effekt konnte auch optisch durch Beobachtung der Dispersion bestätigt werden. Die Silber-Nanopartikel zeigten in Dispersion eine gelbliche Färbung. Die Dispersionen in PBS wurden immer heller und nach zwei Monaten waren die Dispersionen klar und die Silber-Nanopartikel lagen als schwarze Agglomerate am Boden. PBS enthält verschiedene Salze. Die Zugabe von Elektrolyten beschleunigt allgemein die Agglomeration von

Nanopartikeln.^[144] Die Kolloide haben eine Oberflächenladung in Form einer elektrochemischen Doppelschicht. Durch die Zugabe von Elektrolyten wird diese Doppelschicht dünner. Dadurch wird die Stabilisierung zerstört, und die Dispersionen sind in PBS nicht so lange stabil.

4.3.2 Dispersionsverhalten von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln in RPMI

Um Zelluntersuchungen mit den Silber-Nanopartikeln durchführen zu können, müssen die Partikel in Zellkulturmedien eine stabile Dispersion bilden. Dadurch wird sichergestellt, dass die Zellen tatsächlich den einzelnen Nanopartikeln und nicht undefinierten Agglomeraten ausgesetzt werden. Hierzu wurden die Silber-Nanopartikel in RPMI dispergiert und die Größenverteilung später in Abhängigkeit verschiedener zugesetzter Proteinkonzentrationen gemessen. RPMI ist ein chemisch definiertes Zellkulturmedium, welches für Leukozyten und andere humane und tierische Zelltypen verwendet wird. RPMI basiert auf einem Hydrogencarbonat-Puffersystem, welches Glukose, Salze, Vitamine und Aminosäuren enthält. Die genaue Zusammensetzung ist in Tabelle 18 zusammengefasst.

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

Tabelle 18: Zusammensetzung von RPMI.

Stoff	mg L ⁻¹	Stoff	mg L ⁻¹
NaCl	6000	L-Arginin	200
KCl	400	L-Asparagin	50
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	1512	L-Asparaginsäure	20
MgSO ₄ ·7H ₂ O	100	L-Cystin	50
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	100	L-Glutamin	300
D-Glukose	2000	L-Glutaminsäure	20
Phenolrot	5	Glyzin	10
NaHCO ₃	2000	L-Histidin	15
Gluthathion	1	L-Hydroxyprolin	20
Biotin	0,2	L-Isoleucin	50
Vitamin B ₁₂	0,005	L-Leucin	50
D-Ca-Pantothenat	0,25	L-Lysin*HCl	40
Cholinchlorid	3	L-Methionin	15
Folsäure	1	L-Phenylalanin	15
Myo-Inositol	35	L-Prolin	20
Nikotinamid	1	L-Serin	30
p-Aminobenzoesäure	1	L-Threonin	20
Pyridoxin·HCl	1	L-Tryptophan	5
Riboflavin	0,2	L-Tyrosin	20
Thiamin·HCl	1	L-Valin	20

Es konnte eine zeitabhängige Agglomeration der Partikeldispersionen in RPMI beobachtet werden. Dabei wurde die Agglomeration der Partikel in den verschiedenen Medien über einen Zeitraum von 24 Stunden untersucht. In Abbildung 49 ist die zeitabhängige Änderung der Größe für die Dispersion der Partikel in reinem RPMI dargestellt.

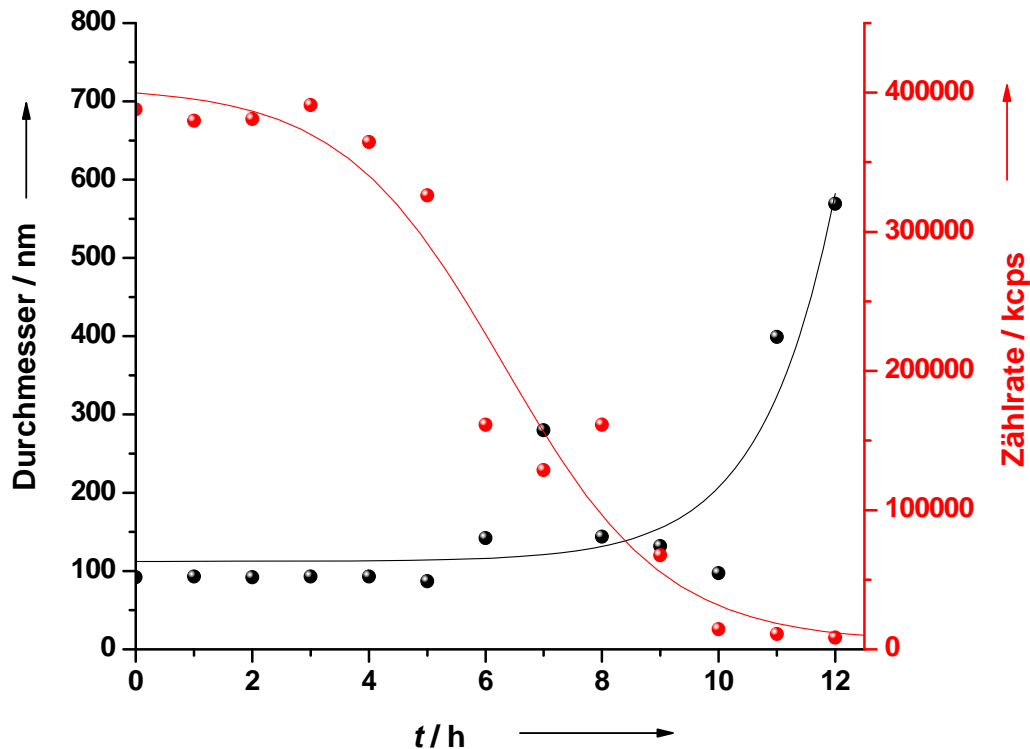


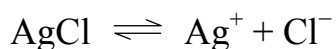
Abbildung 49: Zeitabhängige Änderung der Größe und der Streuintensität von Silber-Nanopartikeln in RPMI über einen Zeitraum von 12 Stunden.

Aufgetragen wurde hier neben der Größenänderung auch die Veränderung der Streuintensität. Interessanterweise sind die Partikel über einen Zeitraum von fünf Stunden in RPMI stabil, agglomerieren und sedimentieren danach allerdings sehr schnell. Dass neben der Agglomeration auch eine Sedimentation der Partikel stattfindet, wird in dem Verlauf der Streuintensität sichtbar. Die Streuintensität sinkt, was ein Hinweis darauf ist, dass die Partikel sedimentieren. Würden nur Agglomerate entstehen, so würde die Streuintensität stark ansteigen, da große Partikel stärker streuen als kleine. In reinem RPMI sind die Silber-Nanopartikel also nur für wenige Stunden stabil, bevor dann eine schnelle Agglomeration eintritt.

Ein großes Problem bei der Stabilisierung von Silber-Nanopartikeln mit RPMI ist der hohe Chloridgehalt des Mediums. Die Gesamtmenge an Chlorid, die in Form von NaCl und KCl im RPMI vorhanden ist beträgt $0,1069 \text{ mol L}^{-1}$

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

bezogen auf die Menge an Chlor. Das Löslichkeitsprodukt von AgCl beträgt $1,7 \cdot 10^{-10} \text{ mol}^2 \text{ L}^{-2}$. Für die Reaktion



gilt für das Löslichkeitsprodukt:

$$L = [\text{Ag}^+] \cdot [\text{Cl}^-]$$

Gleichung 23

Durch das Einsetzen des Löslichkeitsprodukts von Silberchlorid und der Chloridkonzentration im RPMI kann die Silberkonzentration errechnet werden, bei der das Löslichkeitsprodukt gerade erreicht wird. Dabei ergibt sich eine Silberkonzentration von $1,7 \cdot 10^{-4} \text{ mg L}^{-1}$. Bei höheren Konzentrationen wird das Löslichkeitsprodukt überschritten und AgCl fällt aus. Diese Konzentration ist kleiner als die Silberkonzentration, die bei den untersuchten Partikelkonzentrationen freigesetzt wurde. Es ist daher davon auszugehen, dass in den Partikeldispersionen in RPMI ein Teil des Silbers als Silberchlorid ausgefallen ist. Diese Reaktion kann auch direkt an der Partikeloberfläche stattfinden, wodurch die Silber-Nanopartikel passiviert werden.

4.3.3 Dispersionsverhalten von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln in RPMI + 10 % FCS

Um die Stabilität der Nanopartikel zu erhöhen, wurden verschiedene Proteine zum RPMI gegeben. Als Modellproteine wurden FCS und BSA (Kapitel 4.3.4) verwendet. FCS (Fötales Kälberserum) wird aus dem Blut von Kuhföten gewonnen. Die Hauptbestandteile des Kälberserums sind anorganische Salze,

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

Proteine, Steroide und Hormone. Das Kälberserum enthält Proteine, die als Wachstumsfaktoren bei der Kultivierung von Zellen benötigt werden. Zunächst wurde untersucht, wie sich die Partikel in reinem RPMI und in RPMI + 10 % FCS im Vergleich zu Wasser verhalten haben. Der Proteinanteil beträgt in dieser Mischung $4,6 \text{ g L}^{-1}$. Zur Durchführung der Experimente wurden die Partikel mit einer Konzentration von $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ in den unterschiedlichen Medien für sieben Tage bei 37°C unter Zellkulturbedingungen inkubiert und anschließend die Größe mittels DLS gemessen. Die Größenverteilung der Partikel in den verschiedenen Medien ist in Abbildung 50 dargestellt.

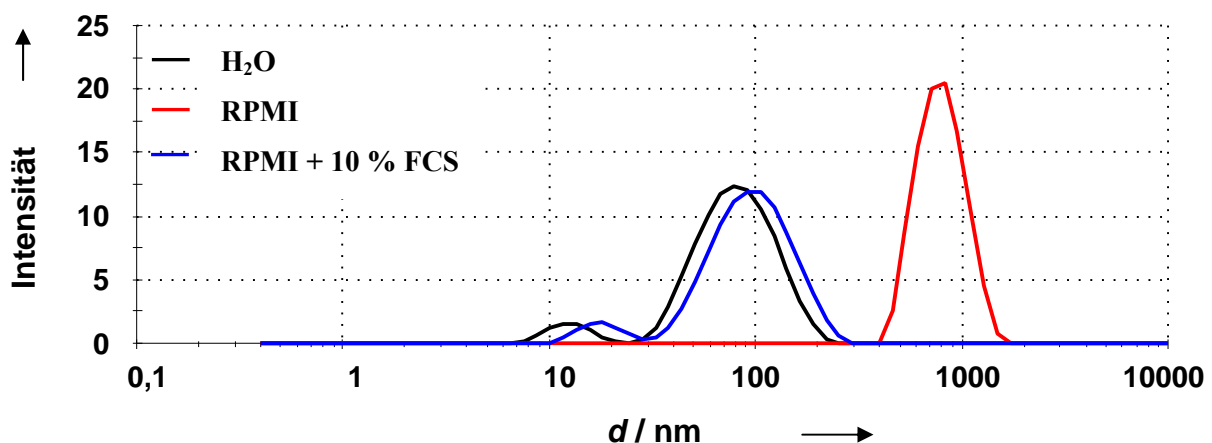


Abbildung 50: Effekte von verschiedenen biologischen Medien auf die Größenverteilung von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln nach sieben Tagen Lagerung bei 37°C .

Die schwarze Kurve zeigt die Partikeldispersion in Wasser. Die Größenverteilung zeigt eine bimodale Verteilung mit einem kleinen Peak bei 13 nm und einem großen Peak bei 87 nm. Wurden die Partikel in RPMI anstelle von Wasser dispergiert, so war in der Dynamischen Lichtstreuung ein Peak bei 875 nm (rote Kurve) erkennbar. Diese Größe deutet auf eine Agglomeration der Partikel in reinem RPMI hin. Dieses Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen in

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

Abbildung 49 überein. Dort wurde bereits gezeigt, dass die Partikel in RPMI nur wenige Stunden stabil sind. Nach dem Dispergieren der Silber-Nanopartikel in RPMI + 10 % FCS (blau Kurve) wurde die gleiche Größenverteilung erhalten wie auch schon für die Dispersion in Wasser. Die Anwesenheit von Proteinen verhindert die Agglomeration der Partikel in RPMI. Diese Experimente zeigen, dass die Silber-Nanopartikel in RPMI mit dem Zusatz von 10 % FCS als Zellkulturmedium dispergiert werden können, ohne dass sich die Partikel aufgrund von Agglomeration verändern und dadurch eine stabile Dispersion bilden.

Im nächsten Schritt wurden die Silber-Nanopartikel mit einer Konzentration von $0,05 \text{ g L}^{-1}$ in RPMI dispergiert und die Größenverteilung, der pH-Wert und das Zetapotential in Abhängigkeit verschiedener FCS-Konzentrationen gemessen. Für diese Untersuchung der Agglomeration wurde FCS mit einem Massenanteil von 1 bis 10 % eingesetzt. Die Größenverteilung wurde mittels DLS untersucht. Die Proben wurden 20 Minuten nach der Dispersion der Partikel in den Medien untersucht. Sowohl die Lagerung der Partikel als auch die Messung der DLS fanden bei 25°C unter Lichtausschluss statt. Die Ergebnisse der Dispersion in RPMI mit verschiedenen Konzentrationen FCS nach 20 Minuten sind in Tabelle 19 zusammengefasst. Die Proben wurden jeweils sechsmal gemessen und es ist der Mittelwert mit Standardabweichung angegeben.

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

Tabelle 19: Ergebnisse der Dispersion von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,05 \text{ g L}^{-1}$, $d = 90 \text{ nm}$ durch Reduktion mit Glukose) in RPMI + 10 % FCS nach 20 Minuten.

	Größe / nm	Zetapotential / mV	pH
RPMI	59,63 ($\pm 0,07$)	-8,42 ($\pm 0,68$)	7,19
RPMI + 1% FCS	72,90 ($\pm 0,34$)	-9,66 ($\pm 0,76$)	7,21
RPMI + 2% FCS	83,61 ($\pm 1,62$)	-9,72 ($\pm 0,80$)	7,19
RPMI + 3% FCS	79,16 ($\pm 0,80$)	-9,06 ($\pm 0,49$)	7,12
RPMI + 4% FCS	84,13 ($\pm 1,57$)	-10,1 ($\pm 0,13$)	7,11
RPMI + 5% FCS	83,84 ($\pm 0,89$)	-10,5 ($\pm 1,50$)	7,14
RPMI + 6% FCS	79,57 ($\pm 1,02$)	-10,71 ($\pm 0,87$)	7,23
RPMI + 7% FCS	80,89 ($\pm 2,18$)	-11,4 ($\pm 0,95$)	7,12
RPMI + 8% FCS	80,66 ($\pm 1,18$)	-6,06 ($\pm 0,79$)	7,21
RPMI + 9% FCS	80,27 ($\pm 0,36$)	-7,86 ($\pm 2,33$)	7,18
RPMI + 10% FCS	81,55 ($\pm 1,08$)	-10,1 ($\pm 0,18$)	7,15

Das Zetapotential von reinem RPMI liegt bei -8 mV. Durch die Zugabe von FCS steigt das Zetapotential in manchen Proben auf -10 mV an. Es ist jedoch kein Trend erkennbar und im Rahmen der Fehlerungenauigkeit kann das Zetapotential als konstant betrachtet werden. Auch der pH-Wert ändert sich durch die Zugabe von FCS zum RPMI nicht und liegt im Mittel bei 7,16. Die Größenverteilung der Dispersion in RPMI mit verschiedenen Konzentrationen FCS nach 20 Minuten sind in Abbildung 51 dargestellt.

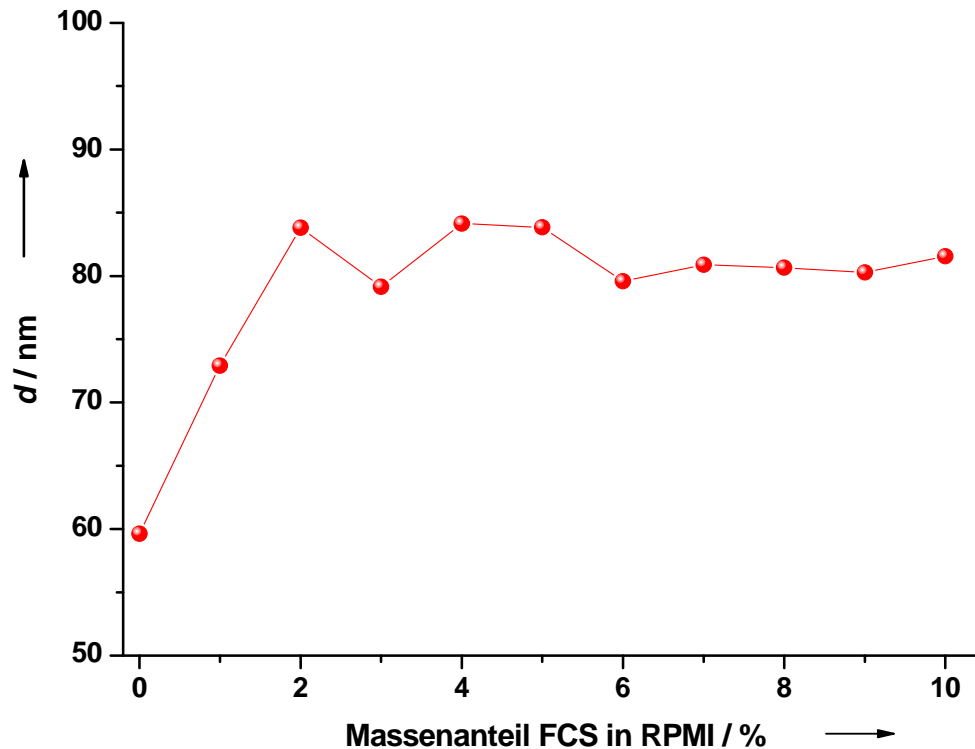


Abbildung 51: Hydrodynamischer Radius PVP-stabilsierter Silber-Nanopartikel ($\beta_{Ag} = 0,05 \text{ g L}^{-1}$, $d = 90 \text{ nm}$ durch Reduktion mit Glukose) in RPMI mit verschiedenen FCS-Konzentrationen nach 20 Minuten.

Durch die Zugabe von FCS zum RPMI wurden die Partikel größer. Die durchschnittliche Größe stieg bei der Dynamischen Lichtstreuung um etwa 20 nm. Ab einer Konzentration von 2 % FCS blieb die Größe der Partikel konstant und änderte sich auch bei weiterer Erhöhung der FCS-Konzentration nicht mehr. In Kapitel 4.3.1 wurde bereits gezeigt, dass die Partikel in Wasser für mindestens zwei Monate stabil sind und nicht agglomerieren. Das Dispersionsverhalten in RPMI mit dem Zusatz von 10 % FCS zeigte ein sehr ähnliches Ergebnis. Die Veränderung der Größe über einen Zeitraum von 24 Stunden ist in Abbildung 52 zusammengefasst.

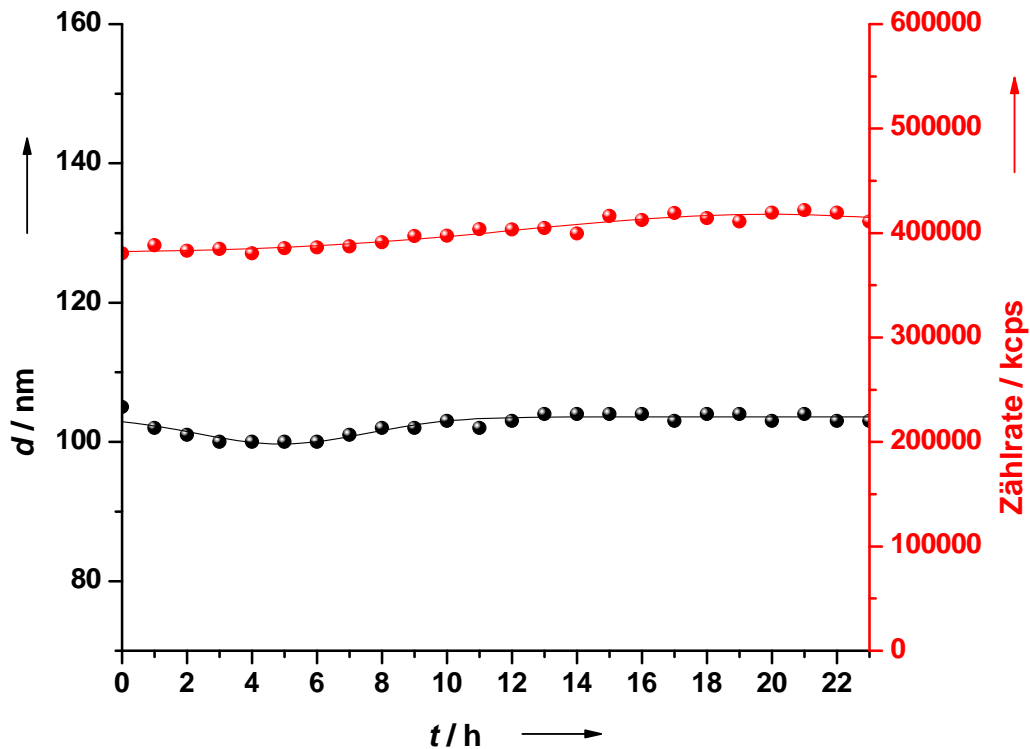


Abbildung 52: Zeitabhängige Änderung der Größe und der Streuintensität von Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,05 \text{ g L}^{-1}$, $d = 90 \text{ nm}$ durch Reduktion mit Glukose) in RPMI + 10 % FCS über einen Zeitraum von 24 Stunden.

In RPMI mit dem Zusatz von 10 % FCS waren die Silber-Nanopartikel über den gesamten Zeitraum stabil. Die durchschnittliche Größe betrug 103 nm. Der Verlauf der Streuintensität war ebenfalls konstant. Das bestätigt, dass die Partikel tatsächlich in diesem Medium stabil waren und weder Agglomeration noch Sedimentation auftraten. Selbst über die 24 Stunden hinaus konnte keine Veränderung der Stabilität beobachtet werden. Diese Ergebnisse stimmten mit früheren Versuchen überein. Allerdings können die Dispersionen in den Medien nicht beliebig lange gelagert werden. Die Medien dienen als Nährmaterial für Bakterien, welche sich bei der Lagerung unter nicht-sterilen Bedingungen nach etwa einer Woche bilden. Die Dispersionen fangen nach dieser Zeit an zu schimmeln und flocken aus.

4.3.4 Dispersionsverhalten von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln in RPMI + 10 % BSA

BSA (*Bovine serum albumin*) ist ein reines Protein, welches ebenfalls als Wachstumsfaktor zu den Zellkulturen gegeben wird. Die Silber-Nanopartikel wurden mit einer Konzentration von $0,05 \text{ g L}^{-1}$ in RPMI dispergiert und die Größenverteilung, der pH-Wert und das Zetapotential in Abhängigkeit verschiedener BSA-Konzentrationen gemessen. Für die Untersuchung der Agglomeration wurde BSA mit einem Massenanteil von 0,001 bis 10 % eingesetzt. Die Größenverteilung wurde mittels DLS untersucht. Die Proben wurden jeweils 20 Minuten nach der Dispersion der Partikel in den Medien untersucht. Sowohl die Lagerung der Partikel als auch die Messung der DLS fanden bei $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ unter Lichtausschluss statt. Bei der DLS geht auch die Viskosität des Dispersionsmediums in die Größenbestimmung mit ein. Da BSA eine höhere Viskosität als Wasser hat wurden diese von Herrn Dr. Lennart Treuel (Institut für Physikalische und Theoretische Chemie, Universität Duisburg-Essen) für die verschiedenen Medien bestimmt und entsprechend korrigiert. Die Ergebnisse der Dispersion in RPMI mit verschiedenen Konzentrationen BSA nach 20 Minuten sind in Tabelle 20 zusammengefasst. Die Proben wurden jeweils sechsmal gemessen und es ist der Mittelwert mit Standardabweichung angegeben.

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

Tabelle 20: Ergebnisse der Dispersion von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,05 \text{ g L}^{-1}$, $d = 90 \text{ nm}$ durch Reduktion mit Glukose) in RPMI + 10 % BSA nach 20 Minuten.

	Größe / nm	Zetapotential / mV	pH	η / cP
RPMI	57,64 ($\pm 0,32$)	-8,672 ($\pm 0,79$)	7,19	1
RPMI + 0,001% BSA	57,93 ($\pm 0,25$)	-9,345 ($\pm 0,35$)	7,05	1
RPMI + 0,01% BSA	58,30 ($\pm 0,38$)	-8,641 ($\pm 0,81$)	7,12	1
RPMI + 0,1% BSA	63,28 ($\pm 0,47$)	-10,5 ($\pm 0,61$)	7,11	1
RPMI + 1% BSA	64,04 ($\pm 0,61$)	-13,1 ($\pm 1,22$)	7,18	1,02
RPMI + 2% BSA	66,19 ($\pm 0,76$)	-11,1 ($\pm 0,66$)	7,06	1,08
RPMI + 3% BSA	69,38 ($\pm 2,64$)	-12 ($\pm 0,89$)	7,14	1,14
RPMI + 4% BSA	72,70 ($\pm 0,46$)	-12,3 ($\pm 0,99$)	7,07	1,20
RPMI + 5% BSA	76,75 ($\pm 0,99$)	-12,1 ($\pm 0,58$)	7,09	1,26
RPMI + 6% BSA	81,88 ($\pm 3,08$)	-11,1 ($\pm 0,64$)	6,98	1,32
RPMI + 7% BSA	84,90 ($\pm 1,22$)	-13,4 ($\pm 0,76$)	7,02	1,39
RPMI + 8% BSA	88,64 ($\pm 2,12$)	-11,5 ($\pm 0,53$)	6,9	1,45
RPMI + 9% BSA	93,76 (1,75)	-11,4 (0,72)	6,9	1,50
RPMI + 10% BSA	101,2 (1,43)	-9,45 (0,67)	6,91	1,56

Das Zetapotential in reinem RPMI liegt bei -8 mV. Durch die Zugabe von BSA steigt das Zetapotential in den Proben auf durchschnittlich -11 mV an. Auch der pH-Wert ändert sich durch die Zugabe von BSA zum RPMI kaum und liegt im Mittel bei 7,05. Die Größenverteilung wurde mittels DLS untersucht. Abbildung 53 zeigt die hydrodynamischen Radien der Nanopartikel-Dispersionen in RPMI mit verschiedenen Konzentrationen an BSA nach 20 Minuten.

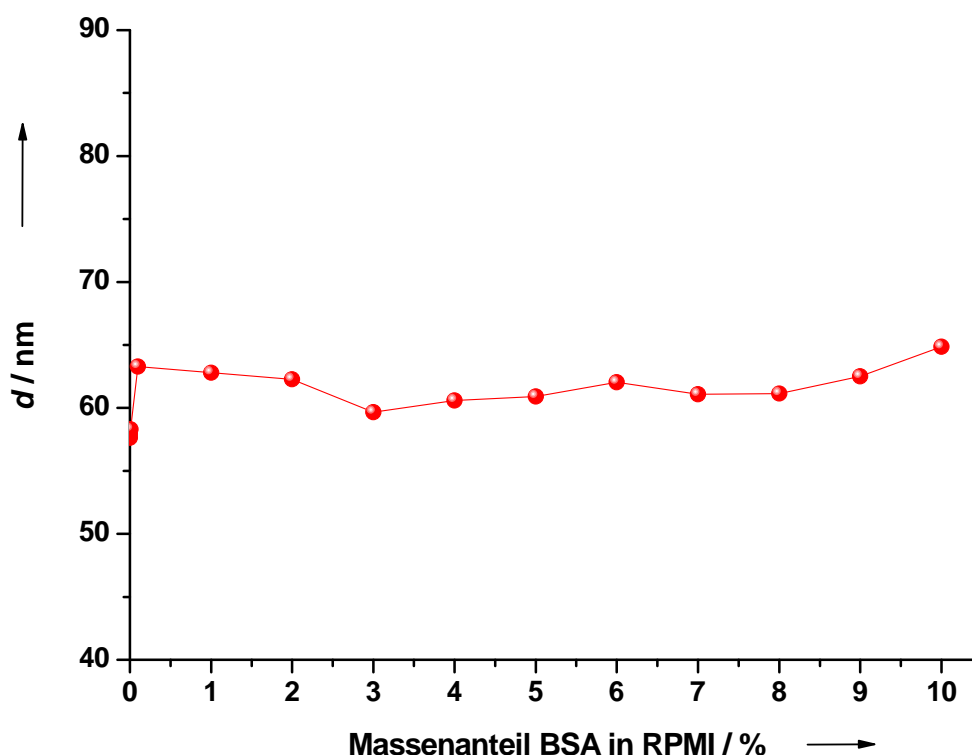


Abbildung 53: Hydrodynamischer Radius PVP-stabilisierter Silber-Nanopartikel ($\beta_{Ag} = 0,05 \text{ g L}^{-1}$, $d = 90 \text{ nm}$ durch Reduktion mit Glukose) in RPMI mit verschiedenen BSA-Konzentrationen nach 20 Minuten.

Im Vergleich zu der Zugabe von FCS beeinflusst die Zugabe von BSA die Partikelgröße über den gesamten Konzentrationsbereich hinweg gar nicht. Die Proben sind allerdings auch nicht direkt vergleichbar, da zum einen die Partikel aus zwei unterschiedlichen Ansätzen stammten, und zum anderen die Proteinkonzentration im BSA deutlich größer ist. In einer Mischung aus RPMI + 10 % BSA beträgt die Proteinkonzentration 100 g L^{-1} . Die Ergebnisse der Dynamischen Lichtstreuung zeigten einen kleinen Anstieg der durchschnittlichen Größe bei der Zugabe von BSA zu dem reinen RPMI. Die unterschiedlichen BSA-Konzentrationen zeigten jedoch keinen Einfluss mehr auf die Partikelgröße. Die Veränderung der Größe über einen Zeitraum von 24 Stunden wurde in RPMI + 10 % BSA untersucht. Abbildung 54 zeigt den

zeitabhängigen Verlauf der Dispersion in RPMI mit dem Zusatz von 10 % BSA für die ersten 12 Stunden.

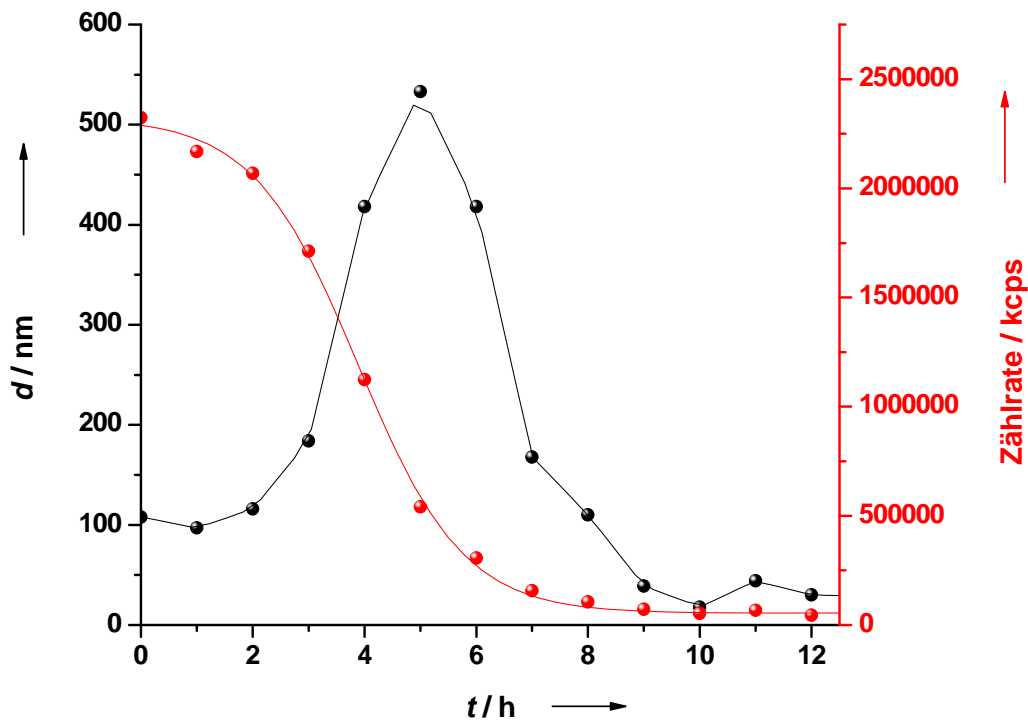


Abbildung 54: Zeitabhängige Änderung der Größe und der Streuintensität von Silber-Nanopartikeln ($\beta_{Ag} = 0,05 \text{ g L}^{-1}$, $d = 90 \text{ nm}$ durch Reduktion mit Glukose) in RPMI + 10 % BSA über einen Zeitraum von 12 Stunden.

Im Vergleich zu der Dispersion in reinem RPMI begannen die Partikel bereits nach einer Stunde zu agglomerieren. Die Agglomeration verlief hier auch bedeutend schneller. Der hydrodynamische Radius stieg bis zu einer durchschnittlichen Größe von etwa 550 nm in fünf Stunden an, und fiel dann wieder ab. Der zeitabhängige Verlauf der Streuintensität zeigte, dass die Partikel nach der Agglomeration sehr schnell sedimentierten. Nach 12 Stunden waren bereits alle Silber-Nanopartikel als Agglomerate sedimentiert, und es konnten

keine Veränderungen mehr im weiteren Verlauf der Messung beobachtet werden.

4.3.5 Zusammenfassung des Dispersionsverhaltens von Silber-Nanopartikeln in biologischen Medien

Es konnte gezeigt werden, dass die Silber-Nanopartikel in Abhängigkeit von ihrer Stabilisierung und den Dispersionsmedien unterschiedliche Stabilitäten zeigten. Die Citrat-stabilisierten Silber-Nanopartikel zeigten im Vergleich zu den PVP-stabilisierten Partikeln eine geringere Stabilität. Nach zwei Monaten Lagerung bei 25 °C in reinem Wasser begannen die Citrat-stabilisierten Partikel zu agglomerieren und zu sedimentieren. Bei höheren Temperaturen und anderen Dispersionsmedien waren die Partikel gar nicht mehr stabil. Die PVP-stabilisierten Partikel waren dagegen sowohl bei 25 °C als auch bei 37 °C über mehr als zwei Monate ohne erkennbare Agglomeration stabil. Der Unterschied zwischen beiden Partikeln liegt in der Art der Stabilisierung. Durch das Citrat werden die Partikel nur elektrostatisch stabilisiert, während das PVP eine sterische Stabilisierung der Partikel bewirkt.

Auch in PBS waren die PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel für etwa einen Monat stabil, bevor diese agglomerierten und sedimentierten. PBS ist ein salzhaltiges Puffersystem, welches die Agglomeration der Partikel durch den hohen Elektrolytanteil stark beschleunigt.

Ähnliche Ergebnisse konnten in reinem RPMI beobachtet werden. Hier waren die Partikel nur für etwa fünf Stunden stabil. Ein Zusatz von Proteinen in Form von FCS und BSA führte allerdings zu einer Stabilisierung der Dispersion in RPMI. Dabei spielte die eingesetzte Proteinkonzentration keine Rolle. Diese Ergebnisse werden in der Literatur bestätigt.^[145] Ähnliche Ergebnisse wurden für die Stabilität von Wolframcarbid-Partikeln gefunden. Diese neigten in reinem

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

PBS zur Agglomeration, während der Zusatz von Serum in Form von BSA und FCS die Partikel in PBS stabilisierte.^[146,147] Auch C₆₀-Partikel agglomerieren sofort in PBS. Die Zugabe von Proteinen in Form von humanem Serumalbumin (HSA) führte in einer Studie dazu, dass die Partikel durch das HSA stabilisiert wurden.^[148] Während die Partikeldispersion in RPMI mit BSA für etwa 12 Stunden stabil war, konnte für die Dispersion in RPMI mit FCS über einen Zeitraum von mehr als 24 Stunden keine Veränderung der Stabilität beobachtet werden. Welche wichtige Rolle die Agglomeration von Nanopartikeln auf die Ergebnisse von Zelltests spielt, wurde bereits in mehreren Studien untersucht. Hier konnte gezeigt werden, dass die Agglomeration von Nanopartikeln die Toxizität im Vergleich zu monodispersen Partikeln stark beeinflusst.^[149] In dieser Studie wurde die Aufnahme von Cer(IV)oxid-Nanopartikeln in humane Lungenfibroblasten untersucht. Die Partikel agglomerierten in den Zellkulturmedien, und es konnten nur Agglomerate in den Zellen nachgewiesen werden. Untersuchungen mit unterschiedlichen Partikelgrößen ergaben, dass bei gleicher Massenkonzentration große Partikel besser von den Zellen aufgenommen wurden als kleine Partikel. In dieser Studie war die Größe der Partikel ausschlaggebend für die Aufnahme in Zellen. Sowohl die Partikelzahl als auch die gesamte Oberfläche waren von geringer Bedeutung. Diese Ergebnisse zeigen, wie wichtig es ist, wie sich die Partikel in den Zellkulturmedien verhalten. Nur dadurch lässt sich abzuschätzen, in welcher Form die Partikel tatsächlich zu den Zellen gegeben werden.

Ein großes Problem bei der Dispersion der Partikel in den Zellkulturmedien ist die Anwesenheit von Chlorid im RPMI. Da die eingesetzten Silberkonzentrationen über dem Löslichkeitsprodukt von AgCl liegen, fällt dieses als schwerlösliche Verbindung aus. Zusätzlich enthält RPMI Glukose, welche wiederum die Silberionen zu elementarem Silber reduzieren kann. Es ist dadurch sehr schwierig, die Ergebnisse der Löslichkeitsuntersuchungen in Wasser auf die Zellkulturmedien zu übertragen. Es konnte zwar gezeigt werden,

Ergebnisse und Diskussion - Dispersionsverhalten

dass die Dispersionen durch die Anwesenheit von Proteinen in den Zellkulturmedien stabilisiert werden können, es ist aber kaum möglich eine zusätzliche Aussage zu treffen, wie die Partikel in diesen Medien vorliegen und welche Reaktion mit dem Silber und den Silberionen stattfinden, die die Eigenschaften der Dispersionen erheblich verändern können. Aus diesem Grund lassen sich auch die Löslichkeiten der Silber-Nanopartikel in den Zellkulturmedien nicht analog zu den Experimenten in Wasser durchführen. Bei dem Versuch, die Auflösung der Silber-Nanopartikel in den Zellkulturmedien RPMI + 10 % FCS bzw. 10 % BSA zu untersuchen, flockten die Proben aus und konnten nicht mittels AAS analysiert werden. Die Untersuchung einer Silber-Standard-Lösung in den Zellkulturmedien zeigte, dass sich der größte Teil des Silbers in dem Niederschlag befand, und dadurch nicht mehr mittels AAS erfasst werden konnte. Eine Reihe von Nebenreaktionen hat dazu geführt, dass die Silberionen gebunden wurden und dadurch nicht analysiert werden konnten. Um die Löslichkeit in diesen Medien ebenfalls zu untersuchen, muss das System daher ganz neu optimiert werden.

4.4 Biologische Aktivität von Silber-Nanopartikeln

Um die biologischen Effekte von Silber-Nanopartikeln zu analysieren, wurden humane mesenchymale Stammzellen (hMSCs) als *in vitro*-Modell für humane Zellen verwendet. Die hMSCs repräsentieren primäre Zellen, welche über mehrere Zyklen kultiviert werden können. Weiter können hMSCs in verschiedenen Geweben wie Knochenmark oder Muskeln gefunden werden.^[150] Dieser Zelltyp ist eng mit der Regeneration und der Reparatur von den Geweben verbunden. Aufgrund ihrer hohen Differenzierungskapazität sind diese Zellen ein optimales zelluläres Modellsystem, um die Differenzierung in Gegenwart von Silber zu untersuchen.^[151] Neben den Silber-Nanopartikeln wurden auch Silberionen mit äquivalenter Konzentration bezogen auf den Silbergehalt der eingesetzten Silber-Nanopartikel untersucht. Die Untersuchungen zur biologischen Aktivität von Silber-Nanopartikeln wurden von Frau Dipl.-Biol. Christina Greulich in der Chirurgische Forschung am Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum durchgeführt.

4.4.1 Zellviabilität

Die Zugabe von Silber zu adhärenenten hMSCs führt zu konzentrationsabhängigen zytotoxischen Effekten, welche durch einen Viabilitätstest bestimmt wurden. Bei diesen Tests wurden die lebenden Zellen mit Calcein-Acetoxymethylester (Calcein-AM), einem Fluoreszenzfarbstoff, angefärbt und ausgewertet. Calcein ist ein Fluorescein-Derivat, dessen Acetoxymethylester in der Zellbiologie für die Analyse der Zellviabilität eingesetzt wird. Das Calcein-AM wird durch die Zellmembran in die lebenden Zellen transportiert, wo die Acetoxymethylgruppe enzymatisch abgespalten wird. Das dadurch freigewordene Calcein kann innerhalb der Zellen Calciumionen komplexieren, was sich in einer grünen

Fluoreszenz äußert. Da das benötigte Enzym in abgestorbenen Zellen nicht mehr vorhanden ist, werden mit dieser Methode ausschließlich lebende Zellen markiert.^[152,153] Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen der mit Calcein-AM angefärbten Zellen sind in Abbildung 55 dargestellt.

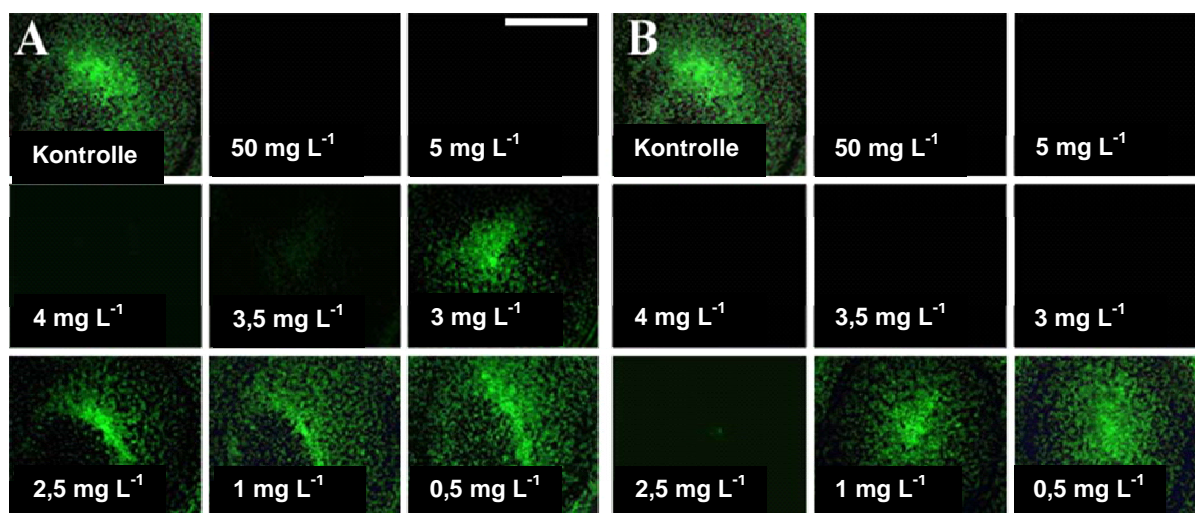


Abbildung 55: Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen von hMSCs, die sieben Tage mit unterschiedlichen Konzentrationen von **A)** PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($d = 100$ nm, durch Reduktion mit Glukose synthetisiert) direkt nach der Synthese und **B)** Silberionen (als Silberacetat) inkubiert und mit Calcein-AM fluoreszenzmarkiert wurden.

Mit zunehmender Nanopartikel-Konzentration konnten immer weniger lebende Zellen detektiert werden. Bei den Nanopartikeln konnten mit einer Konzentration von $3,5 \text{ mg L}^{-1}$ und größer zytotoxische Reaktionen beobachtet werden. Die Silberionen wirkten oberhalb von Konzentrationen von $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ zytotoxisch auf die Zellen. Die fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen zeigen ebenfalls, dass mit zunehmender Silberkonzentration die Zahl der lebenden Zellen abnahm. Mit sinkender Konzentration fluoreszierten immer mehr lebende Zellen. Diese konzentrationsbedingten Unterschiede der Zytotoxizität scheinen abhängig von der Art des eingesetzten Silbers, also ionischer oder

nanopartikulärer Form zu sein. Die quantitative Analyse des Zellwachstums nach dem Anfärben mit Calcein-AM wurde mit digitaler Bildanalyse (Phasenanalyse) ausgewertet. Eine Zusammenfassung der erhaltenen Daten zeigt Abbildung 56.

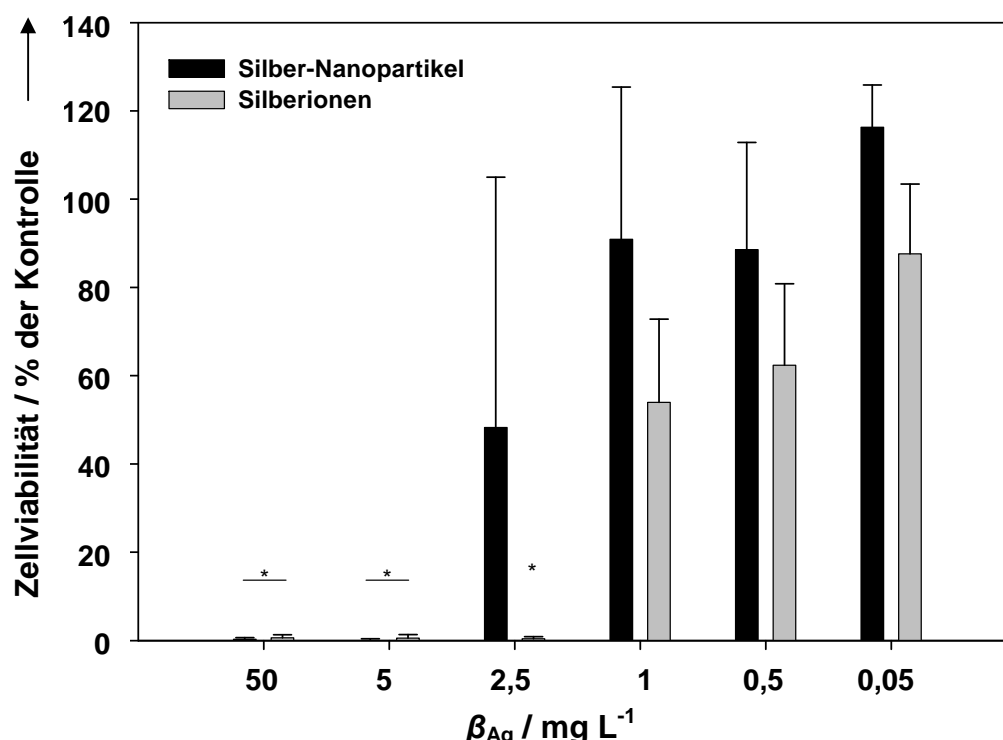


Abbildung 56: Wirkung von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($d = 100 \text{ nm}$, durch Reduktion mit Glukose synthetisiert) direkt nach der Synthese und Silberionen (als Silberacetat) auf die Zellviabilität nach sieben Tagen Inkubationszeit. (*: signifikant im Vergleich zur Kontrolle, welche unter denselben Bedingungen ohne den Zusatz von Silber-Nanopartikeln oder Silberionen durchgeführt wurden; $p < 0,05$).

Zusätzlich zu den Ergebnissen der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen lassen sich durch die quantitative Auswertung die zytotoxischen Effekte der Nanopartikel im Vergleich zu den Ionen bei derselben Konzentration direkt vergleichen. Bei gleicher Silberkonzentration wurden bei der Zugabe von

Nanopartikeln im Vergleich zu der Zugabe von Ionen mehr vitale Zellen nachgewiesen. Diese Ergebnisse zeigen deutlich, dass die Art, in der das Silber zu den Zellen gegeben wird, neben der eingesetzten Konzentration ausschlaggebend für die Toxizität ist, wobei die Silberionen eine höhere Toxizität aufweisen. Aus diesem Ergebnis lässt sich schließen, dass nicht die Silber-Nanopartikel selber, sondern die daraus gelösten Silberionen für die Toxizität der Partikel verantwortlich sind. Da die Ionen-Konzentrationen über den Partikeln geringer war als die Ionen-Konzentration in der Silberacetat-Lösung, konnte bei den Partikeln ein geringer toxischer Effekt gegenüber der Zellviabilität nachgewiesen werden. Zusätzlich zu den Zelltests mit frisch synthetisierten Silber-Nanopartikeln wurde auch untersucht, wie sich die Alterung der Partikel auf ihre biologische Aktivität auswirkt. Es konnte bisher gezeigt werden, dass sich Silberionen aus den Silber-Nanopartikeln herauslösen, bis ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen Partikeln und Ionen erreicht wurde (siehe Kapitel 4.2.2). Die Auflösung der Partikel geht auch mit einer Änderung der Größe einher. Die Änderung der Toxizität von gealterten Partikeln wurde im Vergleich zu frisch synthetisierten Partikeln untersucht. Dazu wurde die Dispersion der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel mit einer Konzentration von $0,55 \text{ mg L}^{-1}$ für sechs Monate bei 5°C gelagert. hMSCs wurden für 24 Stunden unter Zellkulturbedingungen inkubiert und frisch synthetisierte Silber-Nanopartikel und sechs Monate alte Silber-Nanopartikel wurden jeweils vor oder nach der Inkubation zu den Zellen gegeben. Die Vitalität und die Morphologie der Zellen nach der Inkubation wurden mittels lichtmikroskopischer Aufnahmen im Phasenkontrast untersucht. Abbildung 57 zeigt die Aufnahmen der Zellen nach 24 Stunden Inkubationszeit und der Zugabe von frischen und sechs Monate alten PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($\beta_{\text{Ag}} = 50 \text{ mg L}^{-1}$).

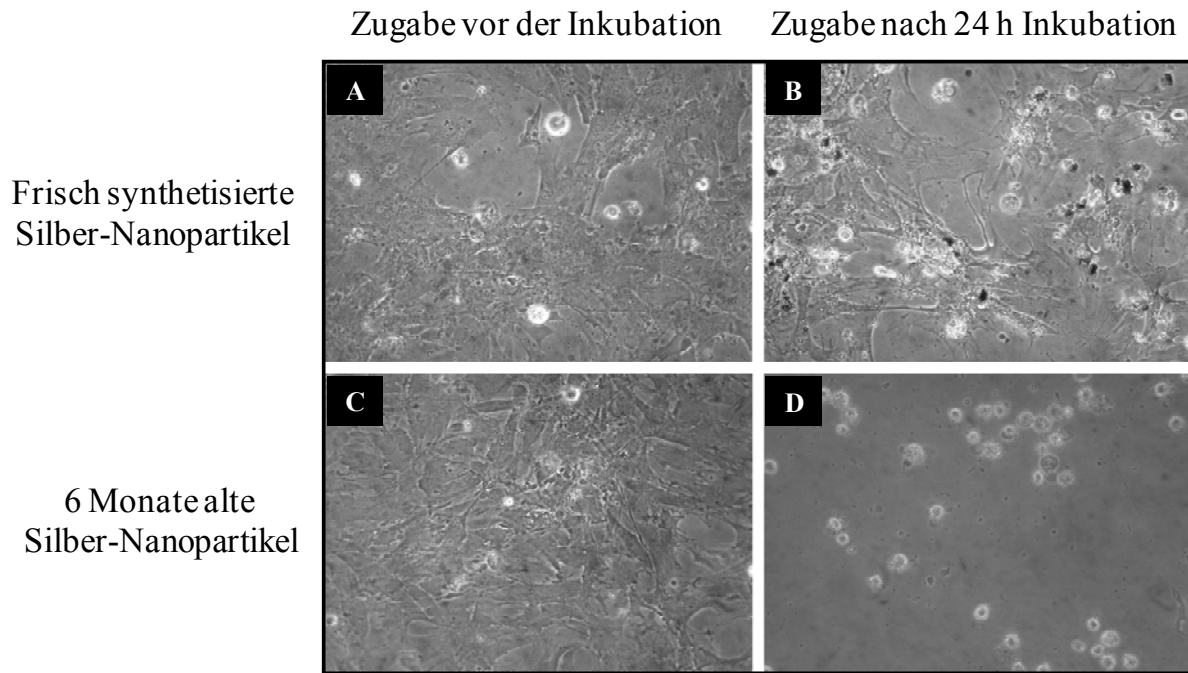


Abbildung 57: Lichtmikroskopische Aufnahmen von hMSCs, die mit frisch synthetisierten oder sechs Monate alten PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($d = 90$ nm, durch Reduktion mit Glukose synthetisiert) ($\beta_{Ag} = 50$ mg L⁻¹) versetzt wurden. **A)** Zugabe frisch synthetisierter Silber-Nanopartikel vor der Inkubation mit RPMI + 10 % FCS. **B)** Zugabe frisch synthetisierter Silber-Nanopartikel nach 24 h Inkubation mit RPMI + 10 % FCS. **C)** Zugabe von sechs Monate alten Silber-Nanopartikeln vor der Inkubation mit RPMI + 10 % FCS. **D)** Zugabe von sechs Monate alten Silber-Nanopartikeln nach 24 h Inkubation mit RPMI + 10 % FCS.

Die Abbildung zeigt, welchen Einfluss es auf die Zellen hatte, zu welchem Zeitpunkt die Partikel zu den Zellen gegeben wurden. Wurden die Partikel bereits vor der Inkubation zu den Zellen gegeben, so sind in beiden Fällen wenige kugelförmige, tote Zellen erkennbar. Wurden die Partikel erst nach 24 Stunden Inkubationszeit zu den Zellen gegeben, so waren deutlich mehr tote Zellen erkennbar. Während bei den frisch synthetisierten Partikeln noch viele lebende Zellen erkennbar sind (Abbildung 57B) zeigt die Abbildung 57D nur noch tote Zellen. In Abbildung 57B sind auch einige Partikelagglomerate

sichtbar, welche in Abbildung 57D nicht vorhanden sind. Die Agglomerate sind als schwarze Punkte erkennbar und sind über den gesamten Bildausschnitt verteilt.

Wie bereits in vorherigen Experimenten gezeigt werden konnte, lösen sich mit der Zeit Silberionen aus den Partikeln heraus. Aus diesem Grund enthielten die sechs Monate alten Proben einen größeren Ionenanteil als die frisch synthetisierten Partikel. Außerdem altern die Partikel, was sich in größeren Partikeln oder Agglomeraten äußert. Zusätzlich lagen in den gealterten Proben mehr Agglomerate vor. Diese Effekte sind dafür verantwortlich, dass die hMSCs verschieden auf die unterschiedlich alten Partikel reagiert haben. Es konnte bisher anhand von Viabilitätstest gezeigt werden, dass die Silberionen eine toxischere Wirkung auf die Zellen haben als die Nanopartikel. Damit lässt sich erklären, warum nach sechs Monaten keine lebenden Zellen mehr gefunden wurden. Die Silberionen-Konzentration in der Dispersion war in dieser Zeit deutlich gestiegen. Überraschenderweise war nur die Zugabe der Partikel zu den bereits adhären Zellen toxisch für die hMSCs. Sind die Partikel schon während der Inkubationszeit zugegen gewesen, führte dies nicht zum Zelltod. Die Agglomerate in Abbildung 57B, die bei der Zugabe der frisch synthetisierten nach der Inkubationszeit entstanden sind, deuten auf eine zelluläre Aufnahme von Partikeln hin, die dann in der Zelle agglomeriert sind.

4.4.2 Proliferation

Die Proliferation, also die Vermehrung der Zellen durch Zellteilung, wurde mit Hilfe der AlamarBlueTM-Färbung untersucht. Dabei wird die Anzahl der lebenden Zellen indirekt durch die Bestimmung der mitochondrialen metabolischen Zellaktivität gemessen. Das System enthält einen Redox-Indikator, der seine Fluoreszenz und Farbe durch chemische Reduktion während

des Zellwachstums ändert. Findet Zellwachstum statt, so wechselt der Indikator von der oxidierten nicht fluoreszierenden blauen Form in die reduzierte fluoreszierende rote Form. Während also bei der Calcein-AM-Färbung direkt die lebenden adhären Zellen gesehen werden, zeigt die Proliferations-Messung lediglich den Farbunterschied eines Redox-Indikators, basierend auf der metabolischen Aktivität der Zelle. Abbildung 58 zeigt die Ergebnisse der Zellproliferation nach der Inkubation von hMSCs mit Silber.

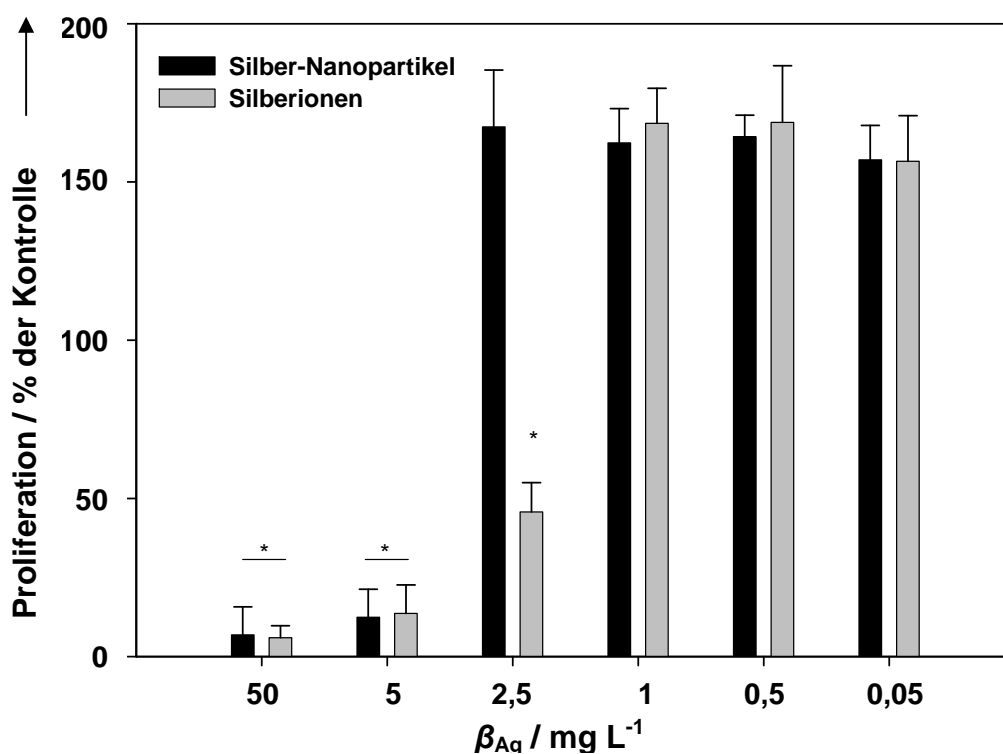


Abbildung 58: Wirkung von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($d = 100 \text{ nm}$, durch Reduktion mit Glukose synthetisiert) direkt nach der Synthese und Silberionen (als Silberacetat) auf die Zellproliferation nach sieben Tagen Inkubationszeit. (*: signifikant im Vergleich zur Kontrolle, welche unter denselben Bedingungen ohne den Zusatz von Silber-Nanopartikeln oder Silberionen durchgeführt wurden; $p < 0,05$).

Die spontane Proliferation ist charakteristisch für undifferenzierte hMSCs.^[154] Die Proliferationsrate der Zellen war bei Partikel-Konzentrationen von 5 mg L^{-1}

und größer deutlich signifikant kleiner als die Kontrolle. Die Silberionen zeigten bereits bei einer Konzentration von $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ und größer eine erniedrigte Proliferationsrate. Die Ergebnisse der Proliferation stimmen mit den Viabilitätstests überein, da auch bei diesen Untersuchungen die Toxizität der Silberionen höher ist als die der Silber-Nanopartikel.

4.4.3 Interleukin-Freisetzung

Die Interleukine sind eine Untergruppe der Zytokine, welche aus zuckerhaltigen Proteinen bestehen. Sie üben regulierende Funktionen für das Wachstum und die Differenzierung von Zellen aus. Die hMSCs wurden dabei mit verschiedenen Konzentrationen an Silber für sieben Tage inkubiert. Dabei wurde das Silber zum einen direkt bei der Aussaat, als auch 24 Stunden nach der Aussaat zu den bereits adhärennten hMSCs gegeben. Anschließend wurde die Freisetzung der Interleukine mit ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) analysiert. ELISA ist ein immunologisches Nachweisverfahren, das auf einer enzymatischen Farbreaktion basiert. Spezifische Antigene, die sich an den nachzuweisenden Stoff binden, werden mit einem Enzym markiert. Das Enzym katalysiert eine Reaktion, die durch einen Farbumschlag oder Fluoreszenz das Vorhandensein des Antigens nachweist. Da die Signalstärke somit eine Funktion der Antigenkonzentration ist, kann dieser Test quantitativ ausgewertet werden. Interleukin-6 (IL-6) bewirkt in der Leber die vermehrte Synthese von Akute-Phase-Proteinen, die bei Gewebeschädigungen gebildet werden, um Entzündungen zu lokalisieren und die Ausbreitung zu verhindern. Abbildung 59 zeigt die Wirkung verschiedener Konzentrationen von Silber auf IL-6.

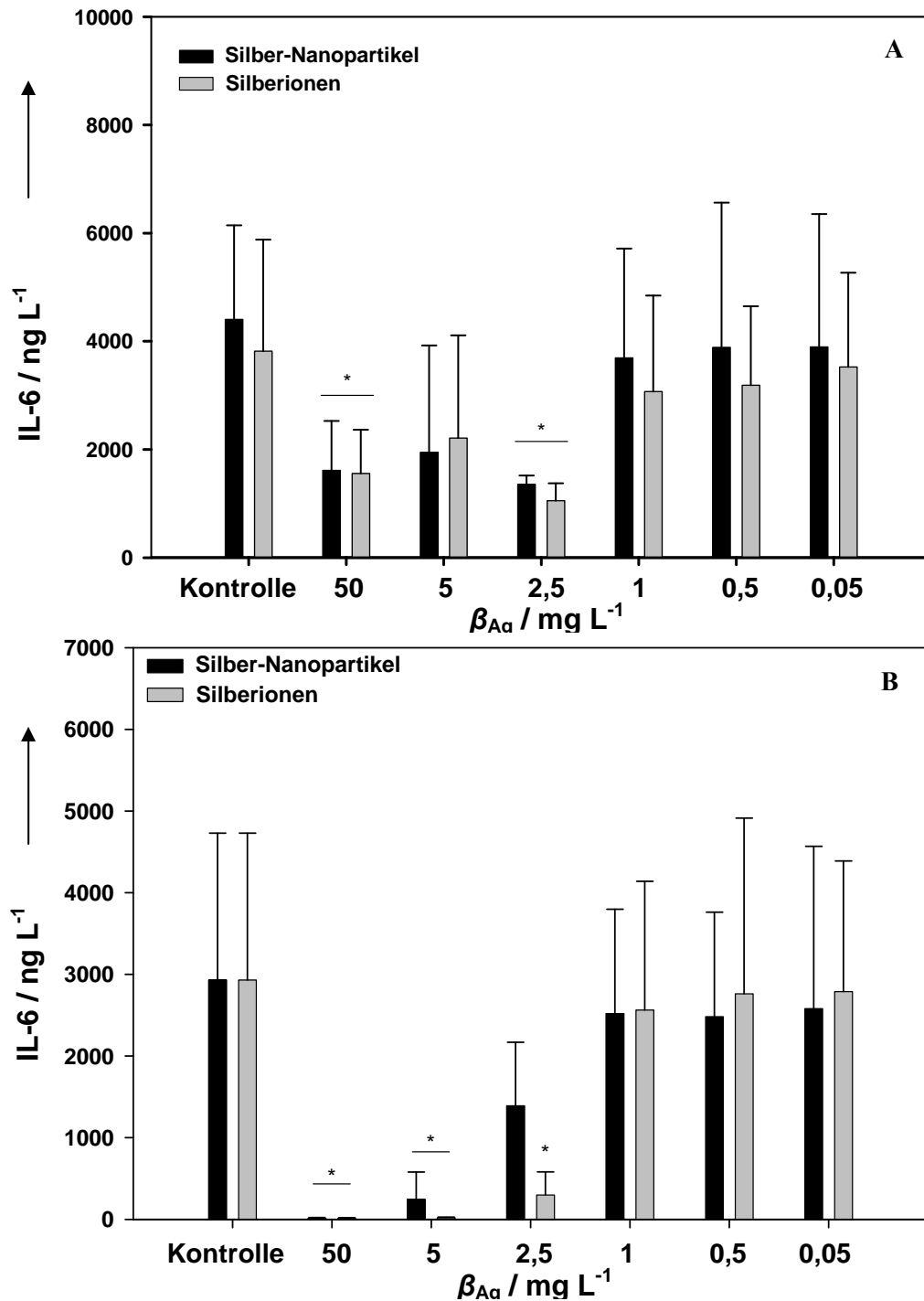


Abbildung 59: Wirkung von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($d = 100 \text{ nm}$, durch Reduktion mit Glukose synthetisiert) direkt nach der Synthese und Silberionen (als Silberacetat) auf die IL-6-Freisetzung nach sieben Tagen Inkubationszeit. **A)** Zugabe nach 24 h Inkubation mit RPMI + 10 % FCS. **B)** Zugabe vor der Inkubation mit RPMI + 10 % FCS. (*: signifikant im Vergleich zur Kontrolle, welche unter denselben Bedingungen ohne den Zusatz von Silber-Nanopartikeln oder Silberionen durchgeführt wurden; $p < 0,05$).

Bei der Zugabe von Silber zu den adhären Zellen nach 24 Stunden steigt mit sinkender Silberkonzentration die IL-6-Freisetzung. Sobald die Konzentration 1 mg L^{-1} oder kleiner war, gab es keinen signifikanten Unterschied mehr zu der Kontrolle. Auffällig ist hierbei, dass es kaum einen Unterschied zwischen den Silberionen und den Nanopartikeln gab. Wurde das Silber direkt bei der Aussaat zu den Zellen gegeben, so zeigte sich ein ähnliches Ergebnis. Konzentrationen von 50 mg L^{-1} bis $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ verringerten die Freisetzung. Allerdings wurde hierbei so gut wie gar kein IL-6 freigesetzt, während bei der Zugabe nach 24 Stunden noch etwa die Hälfte des Wertes der Kontrollgruppe wiedergefunden wurde. Die Kontrollgruppe wurde unter den gleichen Bedingungen ohne Zusatz von Silber behandelt. Allerdings konnte in diesem Konzentrationsbereich durch die Zugabe von Silber-Nanopartikeln ein leichter Anstieg der freigesetzten IL-6-Menge beobachtet werden, während bei der Zugabe der Ionen erst bei einer Konzentration von $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ etwas IL-6 nachgewiesen wurde. Bei kleineren Konzentrationen zeigten beide Systeme die gleichen Effekte, unabhängig von der Art des zugegebenen Silbers. Eine Erniedrigung der Silberkonzentration bewirkte in beiden Systemen keine weitere Veränderung der IL-6-Freisetzung. Die Freisetzung der Zytokine wurde im Rahmen dieser Arbeit allgemein als Kennzeichen für die Aktivität der Zellen benutzt.

Interleukin-8 gehört zu den Chemokinen, einer Gruppe von Signalproteinen, die die Chemotaxis der Zellen auslösen. Produziert wird das Interleukin-8 unter anderem durch Endothelzellen, Monozyten, Epithelzellen und Fibroblasten. Die Ergebnisse sind in Abbildung 60 dargestellt.

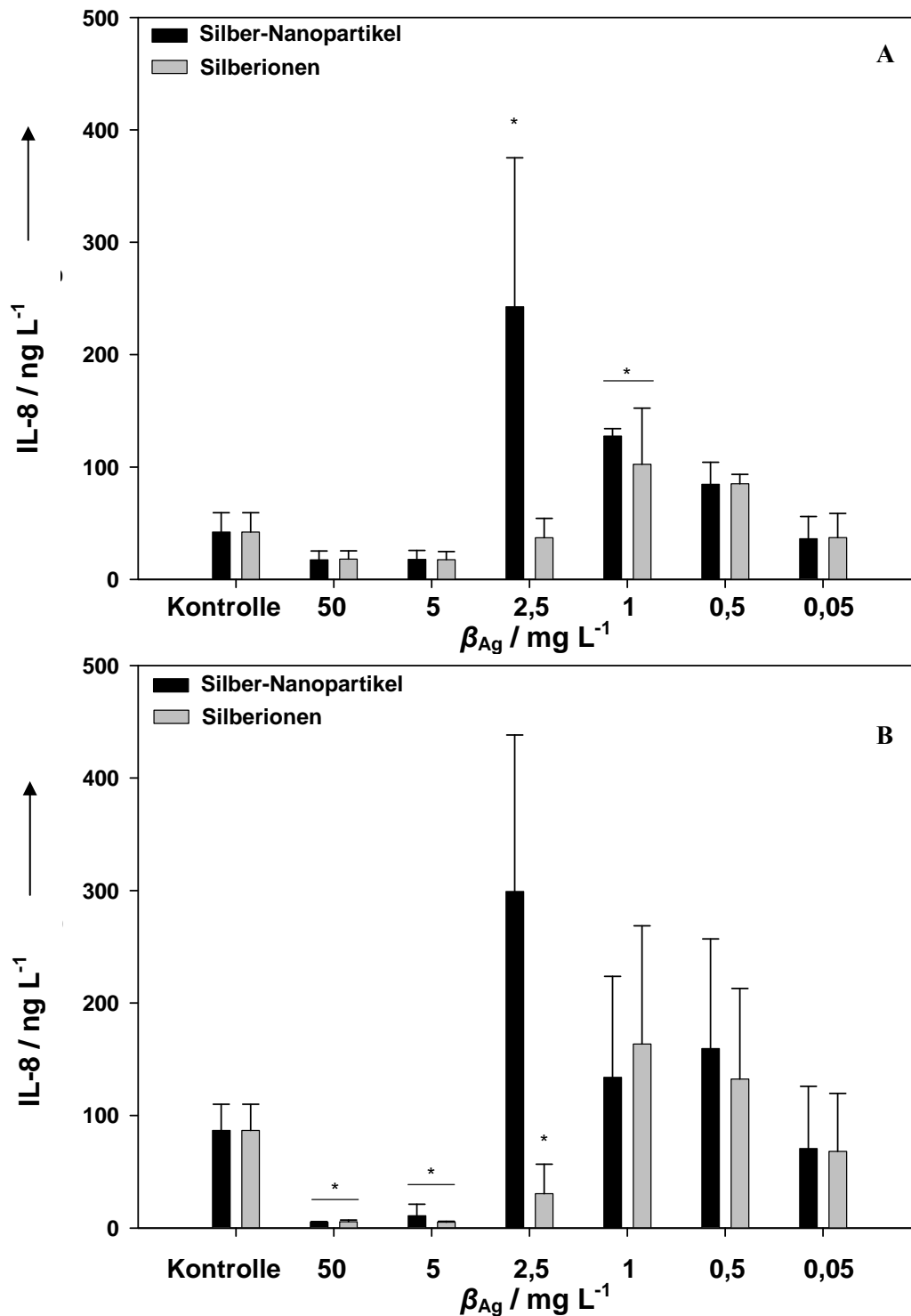


Abbildung 60: Wirkung von PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikeln ($d = 100 \text{ nm}$, durch Reduktion mit Glukose synthetisiert) direkt nach der Synthese und Silberionen (als Silberacetat) auf die IL-8-Freisetzung nach sieben Tagen Inkubationszeit. **A)** Zugabe nach 24 h Inkubation mit RPMI + 10 % FCS. **B)** Zugabe vor der Inkubation mit RPMI + 10 % FCS. (*: signifikant im Vergleich zur Kontrolle, welche unter denselben Bedingungen ohne den Zusatz von Silber-Nanopartikeln oder Silberionen durchgeführt wurden; $p < 0,05$).

Eine Silberkonzentration von 50 mg L^{-1} und 5 mg L^{-1} hemmte in allen Systemen die IL-8-Freisetzung. Bei einer Partikelkonzentration von $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ stieg die IL-8-Freisetzung spontan an, und sank dann mit kleiner werdender Konzentration wieder ab. Bei einer Konzentration $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ war kein Einfluss der Partikel auf die IL-8-Freisetzung mehr erkennbar. Diese Konzentration führte zu einer IL-8-Freisetzung, ähnlich der Kontrollgruppe. Bei den Silberionen konnte ein ähnlicher Effekt festgestellt werden. Allerdings stieg hier die IL-8-Freisetzung bei Konzentrationen von $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ bis 1 mg L^{-1} langsam an und sank dann bei weiterer Erniedrigung der Silberkonzentration wieder ab. Der Zeitpunkt der Silber-Zugabe spielte hier in beiden Fällen keine Rolle. Die Zugabe einer geringen Menge an Silber scheint sogar stimulierend für die IL-8-Freisetzung zu sein, da hier deutlich höhere Ergebnisse als bei der Kontrollgruppe erzielt wurden. Besonders interessant ist die zugegebene Silberkonzentration von $2,5 \text{ mg L}^{-1}$. Spontan stieg die IL-8-Freisetzung bei der Zugabe von Nanopartikeln an, und wurde danach wieder niedriger. Bei der Zugabe von Silberionen war dieser Effekt deutlich schwächer. Bei 1 mg L^{-1} und kleiner liefen beide Ergebnisse parallel zueinander. Obwohl die bisherigen Ergebnisse alle darauf hingedeutet haben, dass die Silberionen die biologisch aktivere Spezies ist, scheint die IL-8-Freisetzung eindeutig stärker durch die Anwesenheit von Silber-Nanopartikeln stimuliert zu werden.

4.4.4 Zusammenfassung der biologischen Aktivität

Die biologischen Tests mit humanen mesenchymalen Stammzellen zeigten eine konzentrationsabhängige Toxizität der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel.^[155,156] Untersucht wurde neben dem Einfluss der Silber-Nanopartikel auch die Wirkung von Silberionen in der gleichen Konzentration bezogen auf die eingesetzte Silbermenge. Die maximalen Silberkonzentrationen,

Ergebnisse und Diskussion – Biologische Aktivität

bei denen keine Effekte auf die biologische Aktivität beobachtet werden konnten, sind in Tabelle 21 zusammengefasst.

Tabelle 21: Zusammenfassung der maximalen Silberkonzentrationen, bei denen keine toxischen Effekte auf die hMSCs nachgewiesen werden konnten.

	Silber-Nanopartikel	Silberionen
Zellviabilität	3 mg L ⁻¹	1 mg L ⁻¹
Proliferation	2,5 mg L ⁻¹	1 mg L ⁻¹
Chemotaxis	3 mg L ⁻¹	1 mg L ⁻¹
Interleukin-6	2,5 mg L ⁻¹	1 mg L ⁻¹
Interleukin-8	2,5 mg L ⁻¹	1 mg L ⁻¹

In einem Konzentrationsbereich über 3 mg L⁻¹ konnten signifikante toxische Effekte der Silber-Nanopartikel gegenüber den hMSCs festgestellt werden. Für Silberionen wurde dieser Effekt bereits bei Konzentrationen von 1 mg L⁻¹ und höher beobachtet. Besonders auffällig war, dass diese Ergebnisse bei allen untersuchten biologischen Aktivitäten gleich waren. Die höchste Silberkonzentration, bei der die Silber-Nanopartikel keine zytotoxischen Effekte zeigten, lag bei 2,5 mg L⁻¹. Die Silberionen wirkten bei dieser Konzentration noch stark toxisch auf die hMSCs. Hier konnten erst ab einer Silberkonzentration von 1 mg L⁻¹ und kleiner keine toxischen Effekte mehr auf die Zellen nachgewiesen werden.

Ähnliche Ergebnisse bezüglich der Toxizität unterschiedlicher Konzentrationen an Nanopartikeln und Silberionen konnten bei Zebrafischen festgestellt werden.^[157] Die toxischen Effekte wurden anhand der Zellviabilität, der Chemotaxis, der Interleukin-Freisetzung und der Proliferation der Zellen bei der Zugabe von Silber bestimmt.

Ähnliche Ergebnisse bezüglich der Proliferation wurden an dem Bakterium *Escherichia coli* nachgewiesen. Die Adhäsion der Partikel an die Zellwand und deren Eindringen durch die Zellmembran hemmt das Wachstum und die Proliferation.^[158] Eine Ausnahme von diesen Ergebnissen bildet die Freisetzung von IL-8. Während die Zellen in allen Tests toxisch auf höhere Silberkonzentrationen reagieren, zeigte IL-8 eine deutliche Aktivierung bei höheren Silberkonzentrationen. Bei der gleichen eingesetzten Silberkonzentration wurde die Bildung von IL-6 gehemmt. Der molekulare Mechanismus dieser relativ spezifischen Zytokinantwort ist noch nicht geklärt. Ähnliche Ergebnisse konnten allerdings bei *in vitro*-Experimenten mit hMSCs und Ni²⁺-Ionen erhalten werden.^[159] Die Aktivierung von IL-8 in hMSCs ist jedoch nicht allein auf die Silberionen zurückzuführen. Es wurde gezeigt, dass Krebszellen auf toxische Nickelkonzentrationen mit einer erhöhten Bildung von Botenstoffen reagieren. Diese Erhöhung ist auf die Erhöhung der IL-8-Konzentration, die wiederum durch divalente Metallionen hervorgerufen wird, zurückzuführen. Auch Titan-Partikel erhöhen die IL-8-Freisetzung in Osteoblasten.^[160] Gut bekannt ist, dass Metallionen die metabolische Aktivität der Zellen verändern und dadurch zelluläre Funktionen zerstört werden.^[161-164] Die erhöhte Freisetzung von IL-8 bei toxischen Konzentrationen von Silberionen oder anderen Metallionen kann daher als zelluläres Alarmsystem betrachtet werden.

Es wurden auch bereits für andere Säugetierzellen Untersuchungen bezüglich der Toxizität von Silber-Nanopartikeln gemacht. Toxische Effekte wurden für NIH3T3-Fibroblasten bei 50 µg mL⁻¹,^[165] für Muskelzellen bei 30 µg mL⁻¹,^[165] für alveolare Makrophagen bei 25 µg mL⁻¹^[166] und für C18-4 Stammzellen bei 10 µg mL⁻¹^[167] festgestellt. Zum Vergleich wurden auch bereits antimikrobielle Effekte von Silber-Nanopartikeln auf die Mikroorganismen *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* untersucht.^[168] Das mikrobielle Wachstum wurde hierbei bei bedeutend kleineren Konzentrationen von 0,35 ng mL⁻¹ für *E. coli* und

3,5 ng mL⁻¹ für *S. aureus* gehemmt.^[169] Bei diesen Konzentrationen konnten keine zytotoxischen Effekte mehr auf hMSCs nachgewiesen werden. Daraus ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den antimikrobiellen Effekten von Silber-Nanopartikeln und der Reaktion von humanen Zellen auf diese Nanopartikel. Neben den verschiedenen eingesetzten Arten der Zellen sind auch die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Nanopartikel für die biologischen Effekte verantwortlich. Anhand der Freisetzung von IL-8 konnte jedoch auch demonstriert werden, dass höhere nichttoxische Silberkonzentrationen auch die Zellaktivität erhöhen können.

Ähnliche Ergebnisse wurden für die Toxizität von Silber-Nanopartikeln und Silberionen bei der Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii* festgestellt.^[170] Allerdings wurde dort berichtet, dass die Ionenkonzentration, welche in der Partikel-Dispersion gemessen wurde, die beobachtete Toxizität nicht vollständig erklärt. Es ist jedoch noch nicht geklärt, welche Silber-Spezies für die zytotoxischen Effekte verantwortlich ist. Die höheren zytotoxischen Effekte der Silberionen zeigen, dass die Silberionen die treibende Kraft sind. Wie bereits in Kapitel 4.2.2 gezeigt werden konnte, stehen die Silber-Nanopartikel in Dispersion immer im Gleichgewicht mit Silberionen. Da die Ionenkonzentration in der Partikeldispersion geringer war als in der Silberacetat-Lösung, würde dies erklären, warum die reinen Silberionen bereits bei einer niedrigeren Konzentration zytotoxische Effekte zeigten. Die Ergebnisse stimmen auch mit den gezeigten Literaturergebnissen überein. In allen Fällen konnte beobachtet werden, dass die toxische Wirkung von Silberionen größer ist als die von Silber-Nanopartikeln.^[95]

Die eingesetzten Zellkulturmedien enthielten große Mengen an Salzen, welche wiederum hauptsächlich aus Chloriden und Phosphaten bestehen. Diese führen dazu, dass AgCl und Ag₃PO₄ als schwerlösliche Verbindungen ausfallen können. Aufgrund der größeren Menge an Chlorid und der geringeren Löslichkeit von Silberchlorid spielt dieses als Nebenprodukt bei den

Zellexperimenten eine große Rolle. Die Menge an Silberionen, die in den Zellexperimenten eingesetzt werden, sind größer als das Löslichkeitsprodukt, was zur Ausfällung von Silberchlorid führt. Inhibitorische Effekte von Silber-Nanopartikeln, Silberionen und Silberchlorid wurden bereits an Mikroorganismen getestet.^[171] Weiter bestehen die Zellkulturmedien auch aus Zuckern, Proteinen und Aminosäuren. Die anwesenden Zucker können die Silberionen zu elementarem Silber reduzieren. Andererseits sind die eingesetzten Silber-Nanopartikel durch eine Polymerhülle sterisch stabilisiert. Diese führt dazu, dass ein direkter Kontakt zwischen der metallischen Oberfläche der Nanopartikel und den zellulären Bestandteilen nicht möglich war. Die biologische Aktivität der Silber-Nanopartikel hing daher wahrscheinlich nicht nur mit den Partikeln selbst und deren Löslichkeit zusammen. Auch die Oberflächenfunktionalisierung, die Größe und der Grad der Agglomeration der Partikel haben einen Einfluss auf die Toxizität.^[172]

5. Zusammenfassung

Das Ziel der Arbeit war die Synthese und Charakterisierung von Silber-Nanopartikeln unterschiedlicher Form, Funktionalisierung und Größe und die Untersuchung der Effekte der verschiedenen Silber-Nanopartikel auf mesenchymale Stammzellen.

Im Rahmen dieser Arbeiten wurden Silber-Nanopartikel mit verschiedenen Formen und Funktionalisierungen synthetisiert. Nach dem Polyol-Prozess wurden PVP-stabilisierte Silber-Nanopartikel hergestellt. Hierbei wurde Silbernitrat *in situ* durch das Lösemittel Ethylenglykol reduziert. Neben kugelförmigen Partikeln war es auch möglich, durch Veränderungen der Reaktionsparameter PVP-stabilisierte Silber-Nanowürfel und Silber-Nanostäbchen herzustellen. In wässriger Lösung konnten die PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel durch die Reduktion von Silbernitrat mit Glukose synthetisiert werden. Die dabei erhaltenen kugelförmigen Silber-Nanopartikel ähnelten in Größe und Form den Partikeln aus dem Polyol-Prozess. Des Weiteren wurden Citrat stabilisierte Silber-Nanopartikel hergestellt. Die entstandenen Partikel waren kugelförmig und hatten eine ähnliche Größe wie die PVP-stabilisierten Nanopartikel.

Die Löslichkeit der Silber-Nanopartikel wurde mit Hilfe der Dialyse untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass sich mit der Zeit ein Gleichgewicht zwischen den Silber-Nanopartikeln und den herausgelösten Ionen eingestellt hatte. Dieses Gleichgewicht war sowohl von der gesamten Partikeloberfläche in der Dispersion als auch von der Temperatur während der Dialyse abhängig. Dass der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die Auflösung der Partikel ist, konnte mit Diffusionsexperimenten einer Silbernitratlösung geklärt werden. Sowohl für die PVP-stabilisierten als auch für die Citrat-stabilisierten Partikel konnte eine Gleichgewichtskonzentration ermittelt werden. Allerdings dauerte die Einstellung des Gleichgewichts bei den Citrat-stabilisierten Partikeln viel länger

Zusammenfassung

als bei den PVP-stabilisierten Partikeln. Die kinetische Untersuchung der Auflösung der Silber-Nanopartikel zeigte, dass die Löslichkeit der Partikel mit zunehmender Temperatur und sinkender Konzentration stieg.

Neben der Löslichkeit wurde auch das Agglomerationsverhalten der Partikel in verschiedenen biologischen Zellkulturmedien untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass die Citrat-stabilisierten Nanopartikel aufgrund ihrer elektrostatischen Stabilisierung in wässriger Dispersion nicht so lange stabil waren wie die sterisch stabilisierten PVP-funktionalisierten Nanopartikel. Daher wurde nur das Agglomerationsverhalten der PVP-stabilisierten Partikel in unterschiedlichen Zellkulturmedien untersucht. Mit zunehmendem Elektrolytgehalt der Medien nahm die Stabilität der Nanopartikel ab. Ein geringer Zusatz an Proteinen zu den Medien konnte die Partikel allerdings stabilisieren, und es lagen keine Agglomerate mehr vor. Des Weiteren wurde die Toxizität der PVP-stabilisierten Silber-Nanopartikel an humanen mesenchymalen Stammzellen getestet. Als Zellkulturmedien wurden dabei die Medien eingesetzt, in denen die Silber-Nanopartikel keine Agglomerate gebildet hatten, sondern monodispers vorlagen. Bei allen Zellexperimenten konnte gezeigt werden, dass sowohl Silber-Nanopartikel als auch Silberionen eine toxische Wirkung auf humane mesenchymale Stammzellen haben. Bei allen Versuchen konnte die gleiche Beobachtung gemacht werden, dass die Effekte der Silberionen gegenüber den hMSCs größer waren als die der Nanopartikel. Die einzige Ausnahme bildete die IL-8-Freisetzung. Diese wurde durch die Anwesenheit von Silber sogar noch gefördert.

6. Literatur

- [1] T. Hofmann, *Chem. unserer Zeit*, **38**, (2004), 24.
- [2] B. Derjaguin, L. Landau, *Prog. Surf. Sci.*, **43**, (1993), 30.
- [3] B. Wiley, Y. Sun, B. Mayers, Y. Xia, *Chem. Eur. J.*, **11**, (2005), 454
- [4] F. Kim, S. Connor, H. Song, T. Kuykendall, P. D. Yang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, (2004), 3673.
- [5] L. T. Lu, L. D. Tung, I. Robinson, D. Ung, B. Tan, J. Long, A. I. Cooper, D. G. Fernig, N. T. K. Thanh, *J. Mater. Chem.*, **18**, (2008), 2453.
- [6] M. Lattuada, T. A. Hatton, *Langmuir*, **23**, (2007), 2158.
- [7] H. Urch, C. Geismann, M. Ulbricht, M. Epple, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **37**, (2006), 422.
- [8] J. Schwiertz, W. Meyer-Zaika, L. Ruiz-Gonzalez, J. M. Gonzalez-Calbet, M. Vallet-Regi, M. Epple, *J. Mater. Chem.*, **18**, (2008), 3831.
- [9] B. D. Fahlman, *Mater. Chem* **1**, (2007), 282.
- [10] W. P. Halperin, *Rev. Mod. Phys.*, **58**, (1986), 533.
- [11] L. N. Lewis, *Chem. Rev.*, **93**, (1993), 2693.
- [12] G. A. Somorjai, *Chem. Rev.*, **96**, (1996), 1223.
- [13] C. B. Murray, S. H. Sun, H. Doyle, T. Betley, *MRS Bull.*, **26**, (2001), 985.
- [14] T. Tani, *Phys. Today*, **42**, (1989), 36.
- [15] S. Jeong, K. Woo, D. Kim, S. Lim, J. S. Kim, H. Shin, Y. Xia, J. Moon, *Adv. Funct. Mater.*, **18**, (2008), 679.
- [16] S. R. Nicewarner-Pena, R. G. Freeman, B. D. Reiss, L. He, D. J. Pena, I. D. Walton, R. Cromer, C. D. Keating, M. J. Natan, *Science*, **294**, (2001), 137.
- [17] A. W. Sanders, D. A. Routenberg, B. J. Wiley, Y. N. Xia, E. R. Dufresne, M. A. Reed, *Nano Lett.*, **6**, (2006), 1822.

- [18] M. M. C. Cheng, G. Cuda, Y. L. Bunimovich, M. Gaspari, J. R. Heath, H. D. Hill, C. A. Mirkin, A. J. Nijdam, R. Terracciano, T. Thundat, M. Ferrari, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **10**, (2006), 11.
- [19] S. B. Lee, *Nanomedicine*, **2**, (2007), 647.
- [20] Y. Sun, B. Mayers, Y. Xia, *Adv. Mater.*, **15**, (2003), 641.
- [21] C. T. Campbell, S. C. Parker, D. E. Starr, *Science*, **298**, (2002), 811.
- [22] A. Zecchina, E. Groppo, S. Bordiga, *Chem. Eur. J.*, **13**, (2007), 2440.
- [23] Y. Xia, Y. J. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, (2009), 60.
- [24] V. K. LaMer, R. H. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, (1950), 4847.
- [25] M. Ocana, R. Rodriguez-Clemente, C. J. Serna, *Adv. Mater.*, **7**, (1995), 212.
- [26] Y. J. Xiong, Y. N. Xia, *Adv. Mater.*, **19**, (2007), 3385.
- [27] M. P. Pileni, *J. Phys. Chem. C*, **111**, (2007), 9019.
- [28] V. Germain, J. Li, D. Ingert, Z. L. Wang, M. P. Pileni, *J. Phys. Chem. B*, **107**, (2003), 8717.
- [29] Y. Xiong, A. R. Siekkinen, J. Wang, Y. Yin, M. J. Kim, Y. Xia, *J. Mater. Chem.*, **17**, (2007), 2600.
- [30] B. Lim, P. H. C. Camargo, Y. Xia, *Langmuir*, **24**, (2008), 10437.
- [31] Y. Xiong, J. M. McLellan, J. Chen, Y. Yin, Z.-Y. Li, Y. Xia, *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, (2005), 17118.
- [32] Y. Sun, B. Mayers, Y. Xia, *Nano Lett.*, **3**, (2003), 675.
- [33] S. H. Im, Y. T. Lee, B. Wiley, Y. Xia, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, (2005), 2154.
- [34] C. Chen, L. Wang, G. Jiang, Q. Yang, J. Wang, H. Yu, T. Chen, C. Wang, X. Chen, *Nanotechnology*, **17**, (2006), 466.
- [35] B. Wiley, Y. Xiong, Z.-Y. Li, Y. Yin, Y. Xia, *Nano Lett.*, **6**, (2006), 765.
- [36] Y. He, W. F. Wu, G. W. Lu, G. Q. Shi, *Mater. Chem. Phys.*, **98**, (2006), 178.

- [37] M. Singh, I. Sinha, R. K. Mandal, *Mater. Lett.*, **63**, (2009), 425.
- [38] P. C. Lee, D. Meisel, *J. Phys. Chem.*, **86**, (1982), 3391.
- [39] Z. Gryczynski, J. Lukomska, J. R. Lakowicz, E. G. Matveeva, I. Gryczynski, *Chem. Phys. Lett.*, **421**, (2006), 189.
- [40] X. Y. Dong, X. H. Ji, H. L. Wu, L. L. Zhao, J. Li, W. S. Yang, *J. Phys. Chem. C*, **113**, (2009), 6573.
- [41] S. D. Solomon, M. Bahadory, A. V. Jeyarajasingam, S. A. Rutkowsky, C. Boritz, *J. Chem. Educ.*, **84**, (2007), 322.
- [42] N. Shirtcliffe, U. Nickel, S. Schneider, *J. Colloid Interface Sci.*, **211**, (1999), 122.
- [43] T. Deckert-Gaudig, F. Erver, V. Deckert, *Langmuir*, **25**, (2009), 6032.
- [44] I. M. Yakutik, G. P. Shevchenko, *Surf. Sci.*, **566**, (2004), 414.
- [45] D. Mitrakos, J. Jokiniemi, U. Backman, C. Housiadas, *J. Nanopart. Res.*, **10**, (2008), 153.
- [46] U. Backman, J. K. Jokiniemi, A. Auvinen, K. E. J. Lehtinen, *J. Nanopart. Res.*, **4**, (2002), 325.
- [47] H. G. Scheibel, J. Porstendörfer, *J. Colloid Interface Sci.*, **109**, (1986), 275.
- [48] G. Schmid, *Chem. Rev.*, **92**, (1992), 1709.
- [49] A. Henglein, M. Giersig, *J. Phys. Chem. B*, **103**, (1999), 9533.
- [50] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, A. Plech, *J. Phys. Chem. B*, **110**, (2006), 15700.
- [51] Z. Zhang, B. Zhao, L. Hu, *J. Solid State Chem.*, **121**, (1995), 105.
- [52] Y. Sun, Y. Yin, B. T. Mayers, T. Herricks, Y. Xia, *Chem. Mater.*, **14**, (2002), 4736.
- [53] Y. Gao, P. Jiang, L. Song, L. Liu, X. Yan, Z. Zhou, D. Liu, J. Wang, H. Yuan, Z. Zhang, X. Zhao, X. Dou, W. Zhou, G. Wang, S. Xie, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **38**, (2005), 1061.

- [54] C. T. Tian, B. D. Mao, E. B. Wang, Z. H. Kang, Y. L. Song, C. L. Wang, S. H. Li, L. Xu, *Nanotechnology*, **18**, (2007), 285607.
- [55] S. Schlecht, *Nachr. Chem.*, **53**, (2005), 1212.
- [56] C. Ducamp-Sanguesa, R. Herrera-Urbina, M. Figlarz, *J. Solid State Chem.*, **100**, (1992), 272.
- [57] D. Yu, V. Yam, *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, (2004), 13200.
- [58] A. R. Siekkinen, J. M. McLellan, J. Y. Chen, Y. N. Xia, *Chem. Phys. Lett.*, **432**, (2006), 491.
- [59] G. S. Métraux, C. A. Mirkin, *Adv. Mater.*, **17**, (2005), 412.
- [60] V. Bastys, I. Pastoriza-Santos, B. Rodríguez-González, R. Vaisnoras, L. M. Liz-Marzán, *Adv. Funct. Mater.*, **16**, (2006), 766.
- [61] C. Ni, P. A. Hassan, E. W. Kaler, *Langmuir*, **21**, (2005), 3334.
- [62] N. R. Jana, L. Gearheart, C. J. Murphy, *Chem. Commun.*, (2001), 617.
- [63] C. J. Murphy, T. K. Sau, A. M. Gole, C. J. Orendorff, J. Gao, L. Gou, S. E. Hunyadi, T. Li, *J. Phys. Chem. B*, **109**, (2005), 13857.
- [64] Y. Sun, Y. Xia, *Adv. Mater.*, **14**, (2002), 833.
- [65] Y. Ding, Z. L. Wang, *J. Phys. Chem. B*, **108**, (2004), 12280.
- [66] O. Weichold, S. C. Hsu, M. Moller, *J. Mater. Chem.*, **16**, (2006), 4475.
- [67] E. Hao, K. L. Kelly, J. T. Hupp, G. C. Schatz, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, (2002), 15182.
- [68] S. Chen, Z. Fan, D. L. Carroll, *J. Phys. Chem. B*, **106**, (2002), 10777.
- [69] L. Lu, A. Kobayashi, K. Tawa, Y. Ozaki, *Chem. Mater.*, **18**, (2006), 4894.
- [70] J. Boleining, A. Kurz, V. Reuss, C. Sonnichsen, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, (2006), 3824.
- [71] T. C. Deivaraj, N. L. Lala, J. Y. Lee, *J. Colloid Interface Sci*, **289**, (2005), 402.
- [72] D. Yu, V. Yam, *J. Phys. Chem. B*, **109**, (2005), 5497.
- [73] H. H. Huang, X. P. Ni, G. L. Loy, C. H. Chew, K. L. Tan, F. C. Loh, J. F. Deng, G. Q. Xu, *Langmuir*, **12**, (1996), 909.

- [74] R. Jin, Y.-W. Cao, C. A. Mirkin, K. L. Kelly, G. C. Schatz, J. G. Zheng, *Science*, **294**, (2001), 1901.
- [75] D. D. Evanoff, G. Chumanov, *Chem. Phys. Chem.*, **6**, (2005), 1221
- [76] I. O. Sosa, C. Noguez, R. G. Barrera, *J. Phys. Chem. B*, **107**, (2003), 6269.
- [77] J. J. Mock, M. Barbic, D. R. Smith, D. A. Schultz, S. Schultz, *J. Chem. Phys.*, **116**, (2002), 6755.
- [78] A. L. Gonzalez, C. Noguez, G. P. Ortiz, G. Rodriguez-Gattorno, *J. Phys. Chem. B*, **109**, (2005), 17512.
- [79] A. L. González, C. Noguez, *Physics*, (2006), 1.
- [80] R. F. Aroca, P. J. G. Goulet, D. S. dos Santos, R. A. Alvarez-Puebla, O. N. Oliveira, *Anal. Chem.*, **77**, (2005), 378.
- [81] C. J. Murphy, *Science*, **298**, (2002), 2139.
- [82] A. D. Russell, W. B. Hugo, G. P. Ellis, D. K. Luscombe, *Prog. Med. Chem.*, **31**, (1994), 351.
- [83] A. Panel, *New and Unofficial Remedies*, Lippincott Publications, (1950).
- [84] C. A. Moyer, L. Brentano, D. L. Gravens, H. W. Margraf, W. W. Monafo, *Arch. Surg.*, **90**, (1965), 812.
- [85] K. Jun Sung, K. Eunye, Y. Kyeong Nam, K. Jong-Ho, P. Sung Jin, L. Hu Jang, K. So Hyun, P. Young Kyung, P. Yong Ho, H. Cheol-Yong, K. Yong-Kwon, L. Yoon-Sik, J. Dae Hong, C. Myung-Haing, *Nanomedicine*, **3**, (2007), 95.
- [86] K. H. Cho, J. E. Park, T. Osaka, S. G. Park, *Electrochim. Acta*, **51**, (2005), 956.
- [87] W. K. Jung, H. C. Koo, K. W. Kim, S. Shin, S. H. Kim, Y. H. Park, *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, (2008), 2171.
- [88] X. Chen, H. J. Schluesener, *Toxicol. Lett.*, **176**, (2008), 1.
- [89] M. S. Cohen, J. M. Stern, A. J. Vanni, R. S. Kelley, E. Baumgart, D. Field, J. A. Libertino, I. C. Summerhayes, *Surg. Infect.*, **8**, (2007), 397.

- [90] D. Roe, B. Karandikar, N. Bonn-Savage, B. Gibbins, J. B. Roullet, *J. Antimicrob. Chemother.*, **61**, (2008), 869.
- [91] C. L. Fox, B. W. Rappole, W. Stanford, *Surg. Gynecol. Obstet.*, **128**, (1969), 1021.
- [92] W. Stanford, B. W. Rappole, C. L. Fox, *J. Trauma*, **9**, (1969), 377.
- [93] Y. Matsumura, K. Yoshikata, S. Kunisaki, T. Tsuchido, *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, (2003), 4278.
- [94] A. Gupta, K. Matsui, J. F. Lo, S. Silver, *Nature Med.*, **5**, (1999), 183.
- [95] J. R. Morones, J. L. Elechiguerra, A. Camacho, K. Holt, J. B. Kouri, J. T. Ramirez, M. J. Yacaman, *Nanotechnology*, **16**, (2005), 2346.
- [96] M. Trop, M. Novak, S. Rodl, B. Hellbom, W. Kroell, W. Goessler, *J. Trauma*, **60**, (2006), 648.
- [97] Z. P. Xu, Q. H. Zeng, G. Q. Lu, A. B. Yu, *Chem. Eng. Sci.*, **61**, (2006), 1027.
- [98] M. Breunig, S. Bauer, A. Goefferich, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **68**, (2008), 112.
- [99] L. Hu, Z. W. Mao, C. Y. Gao, *J. Mater. Chem.*, **19**, (2009), 3108.
- [100] J. H. Lee, H. H. Ahn, K. S. Kim, J. Y. Lee, M. S. Kim, B. Lee, G. Khang, H. B. Lee, *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, **2**, (2008), 288.
- [101] G. Jiang, K. Park, J. Kim, K. S. Kim, E. J. Oh, H. Kang, S. Han, Y. K. Oh, T. G. Park, S. K. Hahn, *Biopolymers*, **89**, (2008), 635.
- [102] F. X. Gu, R. Karnik, A. Z. Wang, F. Alexis, E. Levy-Nissenbaum, S. Hong, R. S. Langer, O. C. Farokhzad, *Nanotoday*, **2**, (2007), 14.
- [103] C. J. Sunderland, M. Steiert, J. E. Talmadge, A. M. Derfus, S. E. Barry, *Drug Develop. Res.*, **67**, (2006), 70.
- [104] Q. L. Feng, J. Wu, G. Q. Chen, F. Z. Cui, T. N. Kim, J. O. Kim, *J. Biomed. Mater. Res.*, **52**, (2000), 662.
- [105] R. M. Slawson, H. Lee, J. T. Trevors, *Biol. Metals*, **3**, (1990), 151.
- [106] D. W. Brett, *Ostomy/Wound Man.*, **52**, (2006), 34.

- [107] H. C. Flemming, H. Rentschler, *Z. Wasser Abwasser Forsch.*, **16**, (1983), 157.
- [108] P. Li, J. Li, C. Z. Wu, Q. S. Wu, *Nanotechnology*, **16**, (2005), 1912.
- [109] T. J. Berger, J. A. Spadaro, S. E. Chapin, R. O. Becker, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **9**, (1976), 357.
- [110] S. Y. Liao, D. C. Read, W. J. Pugh, J. R. Furr, A. D. Russell, *Lett. Appl. Microbiol.* **25**, (1997), 279.
- [111] M. Rai, A. Yadav, A. Gade, *Biotechnol. Adv.*, **27**, 76.
- [112] C. N. Lok, C. M. Ho, R. Chen, Q. Y. He, W. Y. Yu, H. Sun, P. K. H. Tam, J. F. Chiu, C. M. Che, *J. Biol. Inorg. Chem.*, **12**, (2007), 527.
- [113] M. Ahamed, M. Karns, M. Goodson, J. Rowe, S. M. Hussain, J. J. Schlager, Y. L. Hong, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **233**, (2008), 404.
- [114] R. Griffitt, J. Luo, J. Gao, J. Bonzongo, D. Barber, *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**, (2008), 1972.
- [115] P. L. Taylor, A. L. Ussher, R. E. Burrell, *Biomaterials*, **26**, (2005), 7221.
- [116] J. Elechiguerra, J. Burt, J. Morones, A. Camacho-Bragado, X. Gao, H. Lara, M. Yacaman, *J. Nanobiotechnol.*, **3**, (2005), 6.
- [117] P. Gopinath, S. K. Gogoi, A. Chattopadhyay, S. S. Ghosh, *Nanotechnology*, **19**, (2008), 75104.
- [118] S. Pal, Y. K. Tak, J. M. Song, *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, (2007), 1712.
- [119] E. T. Hwang, J. H. Lee, Y. J. Chae, Y. S. Kim, B. C. Kim, B. I. Sang, M. B. Gu, *Small*, **4**, (2008), 746.
- [120] A. M. Schrand, L. K. Braydich-Stolle, J. J. Schlager, L. M. Dai, S. M. Hussain, *Nanotechnology*, **19**, (2008), 235104.
- [121] B. Wiley, Y. Sun, Y. Xia, *Langmuir*, **21**, (2005), 8077.
- [122] B. Wiley, T. Herricks, Y. Sun, Y. Xia, *Nano Lett.*, **4**, (2004), 1733.
- [123] Y. Sun, B. Mayers, T. Herricks, Y. Xia, *Nano Lett.*, **3**, (2003), 955.
- [124] G. Carotenuto, G. P. Pepe, L. Nicolais, *Eur. Phys. J. B*, **16**, (2000), 11.

- [125] P.-Y. Silvert, R. Herrera-Urbina, N. Duvauchelle, V. Vijayakrishnan, K. T. Elhsissen, *J. Mater. Chem.*, **6**, (1996), 573.
- [126] H. Wang, X. Qiao, J. Chen, S. Ding, *Colloids Surf. A*, **256**, (2005), 111.
- [127] H. Wang, X. Qiao, J. Chen, X. Wang, S. Ding, *Mater. Chem. Phys.*, **94**, (2005), 449.
- [128] Y. Sun, Y. Xia, *Science*, **298**, (2002), 2176.
- [129] Y. J. Xiong, J. Y. Chen, B. Wiley, Y. A. Xia, Y. D. Yin, Z. Y. Li, *Nano Lett.*, **5**, (2005), 1237.
- [130] Y. Xiong, H. Cai, Y. Yin, Y. Xia, *Chem. Phys. Lett.*, **440**, (2007), 273.
- [131] A. Slistan-Grijalvaa, R. Herrera-Urbina, J. F. Rivas-Silva, M. A. ´valos-Borjad, F. F. Castillo ´n-Barrazad, A. Posada-Amarillase, *Physica E*, **25**, (2005), 438.
- [132] Z. S. Pillai, P. V. Kamat, *J. Phys. Chem. B*, **108**, (2004), 945.
- [133] Y. Xiong, I. Washio, J. Chen, M. Sadilek, Y. Xia, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **46**, (2007), 4917.
- [134] R. Joyce-Wöhrmann, H. Münstedt, *Infections*, **26**, (1998), 49.
- [135] W. Walter, W. Francke, *Lehrbuch der Organischen Chemie*, S. Hirzel Verlag Stuttgart, Leipzig, (1998).
- [136] D. R. Lide, *Handbook of Chemistry and Physics*, (2005).
- [137] A. F. Hollemann, N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, Walter de Gruyter, Berlin, (2007).
- [138] C. Damm, H. Münstedt, *Appl. Phys. A*, **91**, (2008), 479.
- [139] R. Kumar, H. Münstedt, *Biomaterials*, **26**, (2005), 2081.
- [140] L. Huang, Z. R. Guo, M. Wang, N. Gu, *Chin. Chem. Lett.*, **17**, (2006), 1405.
- [141] J. Fabrega, S. R. Fawcett, J. C. Renshaw, J. R. Lead, *Environ. Sci. Technol.*, (2009).
- [142] D. Parsons, P. G. Bowler, M. Walker, *Ostomy/Wound Man.*, **49**, (2003), 10.
-

- [143] J. B. Wright, D. L. Hansen, R. E. Burrell, *Wounds*, **10**, (1998), 179.
- [144] H.-D. Dörfler, *Grenzflächen und kolloid-disperse Systeme*, Springer, Berlin, (2002).
- [145] R. C. Murdock, L. Braydich-Stolle, A. M. Schrand, J. J. Schlager, S. M. Hussain, *Toxicol. Sci.*, **101**, (2008), 239.
- [146] S. Bastian, W. Busch, D. Kuhnel, A. Springer, T. Meissner, R. Holke, S. Scholz, M. Iwe, W. Pompe, M. Gelinsky, A. Potthoff, V. Richter, C. Ikonomidou, K. Schirmer, *Environ. Health Perspect.*, **117**, (2009), 530.
- [147] D. Kühnel, W. Busch, T. Meißner, A. Springer, A. Potthoff, V. Richter, M. Gelinsky, S. Scholz, S. Schirmer, *Aqua. Toxicol.*, **93**, (2009), 91.
- [148] S. Deguchi, T. Yamazaki, S. Mukai, R. Usami, K. Horikoshi, *Chem. Res. Toxicol.*, **20**, (2007), 854.
- [149] L. K. Limbach, Y. C. Li, R. N. Grass, T. J. Brunner, M. A. Hintermann, M. Muller, D. Gunther, W. J. Stark, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, (2005), 9370.
- [150] M. F. Pittenger, A. M. Mackay, S. C. Beck, R. K. Jaiswal, R. Douglas, J. D. Mosca, M. A. Moorman, D. W. Simonetti, S. Craig, D. R. Marshak, *Science*, **284**, (1999), 143.
- [151] D. Baksh, L. Song, R. S. Tuan, *J. Cell Mol. Med.*, **8**, (2004), 301.
- [152] X. M. Wang, P. I. Terasaki, G. W. Rankin, D. Chia, H. P. Zhong, S. Hardy, *Hum. Immunol.*, **37**, (1993), 264.
- [153] R. Lichtenfels, W. E. Biddison, H. Schulz, A. B. Vogt, R. Martin, *J. Immunol. Methods*, **172**, (1994), 227.
- [154] S. P. Bruder, N. Jaiswal, S. E. Haynesworth, *J. Cell. Biochem.*, **64**, (1997), 278.
- [155] S. Kittler, C. Greulich, M. Koller, M. Eppler, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **40**, (2009), 258.
- [156] C. Greulich, S. Kittler, M. Eppler, G. Muhr, M. Koller, *Langenbecks Arch. Surg.*, **394**, (2009), 495.

- [157] P. V. Asharani, Y. L. Wu, Z. Y. Gong, S. Valiyaveetil, *Nanotechnology*, **19**, (2008).
- [158] M. Raffi, F. Hussain, T. M. Bhatti, J. I. Akhter, A. Hameed, M. M. Hasan, *J. Mater. Sci. Technol.*, **24**, (2008), 192.
- [159] T. Habijan, O. Bremm, S. A. Esenwein, G. Muhr, M. Koller, *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **38**, (2007), 969.
- [160] E. A. Fritz, T. T. Glant, C. Vermes, J. J. Jacobs, K. A. Roebuck, *J. Orthop. Res.*, **20**, (2002), 490.
- [161] G. Schmalz, H. Schweikl, K. Hiller, *Eur. J. Oral. Sci.*, **108**, (2000), 442.
- [162] J. C. Wataha, P. E. Lockwood, A. Schedle, M. Noda, S. Bouillaguet, *J. Oral Rehabil.*, **29**, (2002), 133.
- [163] J. C. Wataha, P. E. Lockwood, A. Schedle, *J. Biomed. Mater. Res.*, **52**, (2000), 360.
- [164] M. Wagner, C. L. Klein, T. G. van Kooten, C. J. Kirkpatrick, *J. Biomed. Mater. Res.*, **42**, (1998), 443.
- [165] Y. H. Hsin, C. F. Chen, S. Huang, T. S. Shih, P. S. Lai, P. J. Chueh, *Toxicol. Lett.*, **185**, (2009), 142.
- [166] C. Carlson, S. M. Hussain, A. M. Schrand, L. K. Braydich-Stolle, K. L. Hess, R. L. Jones, J. J. Schlager, *J. Phys. Chem. B*, **112**, (2008), 13608.
- [167] L. Braydich-Stolle, S. Hussain, J. J. Schlager, M.-C. Hofman, *Toxicol. Sci.*, **88**, (2005), 412.
- [168] A. Esteban-Cubillo, C. Pecharroman, E. Aguilar, J. Santaren, J. S. Moya, *J. Mater. Sci.*, **41**, (2006), 5208.
- [169] J. S. Kim, *J. Ind. Eng. Chem.*, **13**, (2007), 718.
- [170] E. Navarro, F. Piccapietra, B. Wagner, F. Marconi, R. Kaegi, N. Odzak, L. Sigg, R. Behra, *Environ. Sci. Technol.*, **42**, (2008), 8959.
- [171] O. Choi, K. K. Deng, N. J. Kim, L. Ross, R. Y. Surampalli, Z. Q. Hu, *Water Res.*, **42**, (2008), 3066.

- [172] P. Wick, P. Manser, L. K. Limbach, U. Dettlaff-Weglikowska, F. Krumeich, S. Roth, W. J. Stark, A. Bruinink, *Toxicol. Lett.*, **168**, (2007), 121.

7. Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
BSA	Bovines Serumalbumin
DLS	Dynamische Lichtstreuung
EA	Elementaranalyse
EELS	<i>Electron energy loss spectroscopy</i>
FCS	Fötales Kälberserum (<i>Fetal calf serum</i>)
hMSC	Humane mesenchymale Stammzellen (<i>Human mesenchymal stem cells</i>)
HR-TEM	<i>High resolution transmission electron microscopy</i>
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
IL-11	Interleukin-11
PBMC	<i>Peripheral mononuclear blood cells</i>
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PDI	Polydispersitätsindex
PVP	Poly(N-vinylpyrrolidon)
REM	Rasterelektronenmikroskop
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SERS	<i>Surface enhanced raman scattering</i>
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>

Anhang

7.2 Gefahrstoffe und Entsorgung

Chemikalie	Hersteller	Gefahrstoff-Symbol	R-Sätze	S-Sätze	Entsorgung
Aceton	Fluka	F, Xi	11-36-66-67	9-16-26	E2
AgNO ₃	Roth	C, N	34	50/53	E3
Ethylenglykol	Fluka	Xn	22	2-46	E2
Glukose	Fluka				E1
PVP 40 kDa	Fluka				E1
Trinatriumcitrat-Dihydrat	Fluka	Xi	36	26	E1

E1 Verdünnt in den Abguss

E2 Sammelbehälter für organische Lösemittel

E3 Der Sondermüllbeseitigung zuführen

7.3 Publikationsliste

Reguläre Publikationen in referierten wissenschaftlichen Fachzeitschriften

S. Kittler, C. Greulich, M. Köller, M. Epple, "Synthesis of PVP-coated silver nanoparticles and their biological activity towards human mesenchymal stem cells", *Mat.-wiss. u. Werkstofftech.*, **40** (2009) 258.

C. Greulich, S. Kittler, M. Epple, G. Muhr, M. Köller, "Studies on biocompatibility and interaction of silver nanoparticles on human mesenchymal stem cells (hMSCs)", *Langenbecks Arch. Surg.*, **394** (2009) 495.

S. Kittler, C. Greulich, J.S. Gebauer, J. Diendorf, L. Treuel, L. Ruiz, J. M. Gonzalez-Calbet, M. Vallet-Regi, R. Zellner, M. Köller, M. Epple, "The influence of proteins on the dispersability and cell-biological activity of silver nanoparticles", (**submitted**).

Sonstige Publikationen, Kurzbeiträge, zitierfähige Konferenz

C. Greulich, S. Kittler, M. Epple, M. Köller, "Einfluss von Nanosilber auf die Vitalität und Zellfunktion von humanen mesenchymalen Stammzellen" *Biomaterialien*, **9** (2008) 157.

Wissenschaftliche Vorträge (P=Poster, V=Vortrag)

NanoBio-Europe 2007, Münster, 13.-15.06.2007, S. Kittler, M. Epple, T. Habijan, M. Köller, H. Susanto, M. Ulbricht, L. Treuel, R. Zellner, "Biological and physico-chemical properties of silver nanoparticles" (**P**)

World Biomaterials Congress, Amsterdam, 28.05.-01.06.2008, S. Kittler, M. Epple, C. Greulich, M. Köller, "Biological properties of silver nanoparticles" (**P**)

German-Ukrainian Symposium on Nanoscience and Nanotechnology 2008, 22.-25.09.2008, Essen, S. Kittler, M. Epple, C. Greulich, M. Köller, "Synthesis and biological activity of silver nanoparticles" (V)

12. Chirurgische Forschungstage, 25.-27.09.2008, Freiburg i. Br., C. Greulich, S. Kittler, M. Epple, M. Köller, "The influence of nanosilver on human mesenchymal stem cells" (P)

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V. (DGBM), Hamburg, 20.-22.11.2008, C. Greulich, S. Kittler, M. Epple, M. Köller, "Einfluss von Nanosilber auf die Vitalität und Zellfunktion von humanen mesenchymalen Stammzellen" (P)

11th International Conference on Advanced Materials (ICAM 2009), Rio de Janeiro, Brasilien, 20.-25.09.2009, S. Kittler, C. Greulich, M. Köller, M. Epple, "PVP-coated silver nanoparticles: Synthesis and their biological activity towards human mesenchymal stem cells" (V)

44. Jahrestagung der Deutschen Kolloidgesellschaft, 28.-30.09.2009, Hamburg, September 28-30, 2009, M. Epple, J. Diendorf, S. Kittler, D. Mahl, "On the slow dissolution of metallic nanoparticles (gold, silver, nickel) in aqueous media" (P)

Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V., Tübingen, 08.-10.10.2009, C. Greulich, S. Kittler, L. Treuel, M. Epple, R. Zellner, M. Köller, "Serum proteins influence the biological activity of nanosilver on human mesenchymal stem cells (hMSC)" (P)

World Conference on Regenerative Medicine", Leipzig, 29-31.10.2009, C. Greulich, S. Kittler, J. Gessmann, J. Diendorf, L. M. Epple, M. Köller, "The biological response of human mesenchymal stem cells (hMSCs) on silver nanoparticles" (V)

2009 MRS Fall Meeting, Boston, USA, 30.11.-04.12.2009, J. Diendorf, S. Kittler, C. Greulich, M. Köller, M. Eppe, "Synthesis of PVP-functionalized silver nanoparticles and their biological activity towards human mesenchymal stem cells" (V)

7.4 Lebenslauf

Persönliche Daten

Geburtsdatum: 23. März 1978
Geburtsort: Mülheim an der Ruhr, NRW
Familienstand: verheiratet
Staatsangehörigkeit: deutsch

Berufserfahrung

04/2006 – 12/2009: Promotion an der Universität Duisburg- Essen
„Synthese, Löslichkeit und biologische Aktivität von Silber-Nanopartikeln“

Auslandsaufenthalte

10/2007, 10/2008: Forschungsaufenthalt Universität Madrid
Arbeitskreis Prof. Dr. M. Vallet-Regi
(DAAD Stipendium)
11/2007: Forschungsaufenthalt Universität Bristol
Arbeitskreis Prof. Dr. S. Mann
(DAAD Stipendium)

Studium

1997 – 2000 Biologiestudium an der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf
2000: Beginn des Chemiestudiums an der Universität
Duisburg
2002: Vordiplom, (Gesamtnote: Gut)
06/2005 – 12/2005: Anfertigung der Diplomarbeit im Lehrstuhl für
Analytische Chemie bei PD Dr. U. Telgheder, (Note:
Sehr gut)
Abschluss als Diplom-Chemikerin, (Gesamtnote: Gut)

Weiterer Bildungsweg

1988 – 1997 Gymnasium Broich, Mülheim, Erwerb der
Hochschulreife, (Note 2,9)
1984 – 1988 Grundschule am Oemberg, Mülheim

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit mit dem Titel

„Synthese, Löslichkeit und biologische Aktivität von Silber-Nanopartikeln“

selbst verfasst und keine außer den angegebenen Hilfsmitteln und Quellen verwendet zu haben.

Zudem erkläre ich, dass ich die Arbeit in dieser oder ähnlicher Form bei keiner anderen Fakultät eingereicht habe.

Essen, im September 2009

Stefanie Kittler

Danksagung

Ich danke,

Prof. Dr. Matthias Epple für die stetige Unterstützung sowie den gewährten Freiraum bei der Anfertigung dieser Arbeit und für die Ermöglichung meiner Forschungsaufenthalte in Lissabon und Madrid,

Prof. Dr. Christian Mayer für die Übernahme des Koreferats,

meinen Kooperationspartnern Prof. Dr. Manfred Köller und Dipl. Biol. Christina Greulich vom Berufsgenossenschaftlichen Universitätsklinikum Bergmannsheil in Bochum für die Ergebnisse der Zelltests und die gute Zusammenarbeit, Prof. Dr. Reinhard Zellner und Dr. Lennart Treuel von der Universität Duisburg-Essen für die Viskositätsmessungen und die hilfreichen Diskussionen,

Prof. Dr. M. Vallet-Regi und Prof. Dr. J. M. González-Calbet sowie ihren Arbeitsgruppen an der Universität Madrid für die Anfertigung aller HRTEM-Aufnahmen,

Dipl.-Chem. Jörg Diendorf für die Hilfe bei der Durchführung der letzten Experimente,

den technischen Angestellten des AK Epple für die vielen Dinge, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben,

meinen ehemaligen Kollegen Dr. Frank Neues, Dr. Holger Nebel, Dr. Markus Neumann, Dr. Henning Urch, Dr. Fabienne Boßelmann und vor allem Dr. Janine Siekman für die schöne Zeit, die wir zusammen hatten,

Dipl.-Chem. Manuel Neumeier und Dipl.-Chem. Paulina Kaempfe für die morgendlichen Aufheiterungen beim Kaffeetrinken,

Anhang

Dipl.-Chem. Matthias Matthes und Dipl.-Chem. Thorsten Peitsch für die Hilfe bei der Bewältigung des Computerchaos,

Dipl.-Chem. Dirk Mahl und Dipl. -Chem. Jan Klesing für die schöne und immer wieder erheiternde Zeit im Labor.

Zu guter Letzt möchte ich meinem Mann Stefan für die stetige Unterstützung und die viele Geduld in den letzten Monaten danken.